

**ISOLASI DAN SKREENING BAKTERI ENDOFIT  
PENGHASIL ENZIM FITASE DARI TANAMAN  
JAGUNG (*Zea mays*)**



**Skripsi**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains  
Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Alauddin Makassar

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
**ALAUDDIN**  
MAKASSAR

Oleh:

**NURHIKMAH**  
NIM. 60300113061

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UIN ALAUDDIN MAKASSAR**

2017

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurhikmah  
NIM : 60300113061  
Tempat/Tgl. Lahir : Barru/05 Juli 1995  
Jur/Prodi : Biologi/S1  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Alamat : Villa Samata Sejahtera blok B14 kabupaten Gowa, SUL-SEL  
Judul : "Isolasi dan Skreening Bakteri Endofit Penghasil Enzim Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)".

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika di kemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, 10 Agustus 2017

Penyusun



Nurhikmah

NIM: 60300113061

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
**ALAUDDIN**  
M A K A S S A R

## PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul, "Isolasi dan Skreening Bakteri Endofit Penghasil Enzim Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)", yang disusun oleh Nurhikmah, NIM: 60300113061, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang *munaqasyah* yang diselenggarakan pada hari Rabu 26 Juli 2017, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Ilmu Sains dan Teknologi, Jurusan Biologi.

Samata-Gowa, 26 Juli 2017 M  
02 Dzulkaidah 1438 h

### DEWAN PENGUJI :

Ketua	: Dr. Wasilah, ST., MT.	(.....)
Sekretaris	: Hasyimuddin, S.Si., M.Si.	(.....)
Munaqisy I	: Fatmawati Nur, S.Si., M.Si.	(.....)
Munaqisy II	: Ar. Syarif Hidayat, S.Si., M.Kes.	(.....)
Munaqisy III	: Prof.Dr.H.Arifuddin Ahmad, M.Ag.	(.....)
Pembimbing I	: Hafsan, S.Si., M.Pd.	(.....)
Pembimbing II	: Eka Sukmawaty, S.Si., M.Si.	(.....)

Diketahui oleh:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Alauddin Makassar,

Prof.Dr.H.Arifuddin Ahmad M.Ag.  
NIP. 19710412 200003 1 001

## PERSETUJUAN PEMBIMBING

Pembimbing penulisan skripsi Saudara **Nurhikmah**, NIM: 60300113061, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, setelah meneliti dan mengoreksi dengan seksama skripsi yang berjudul "Isolasi dan Skreening Bakteri Endofit Penghasil Enzim Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)", memandang bahwa hasil penelitian skripsi tersebut telah memenuhi syarat-syarat ilmiah dan dapat disetujui untuk diajukan ke sidang *munaqasyah*.

Demikian persetujuan ini diberikan untuk diproses lebih lanjut.

Makassar, 10 Agustus 2017

Pembimbing I



Hafsan S. Si, M.Pd

NIP. 198109122009122008

Pembimbing II



Eka Sukmawaty S. Si, M. Si

NIP. 198607160320152006



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
**ALAUDDIN**  
M A K A S S A R

## KATA PENGANTAR



Segala puji atas kebesaran Sang Khalik yang telah menciptakan alam semesta dalam suatu keteraturan hingga dari lisan terpercik berjuta rasa syukur ke hadirat Allah swt karena atas limpahan Rahmat, Hidayah dan Karunia-Nyalah sehingga penulis diberikan kekuatan, kesempatan dan kemudahan untuk menyelesaikan tugas akhir (skripsi) ini yang berjudul **“Isolasi dan Skreening Bakteri Endofit Penghasil Fitase Asal Tanaman Jagung (*Zea mays*)”** dapat diselesaikan dengan baik sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar. Shalawat dan Salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Baginda Besar Nabi Muhammad saw, kepada keluarganya, para sahabatnya, hingga pada umatnya hingga akhir zaman ini yang di utus ke permukaan bumi ini untuk menuntun manusia dari alam kegelapan menjadi alam terang benderang seperti sekarang ini yang menjadi suri tauladan/uswatun hasanah bagi kita semua.

Penulis juga tidak lupa mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua penulis, Ayahanda Marhaban H.Iskandar dan Ibunda Sanang Palewai, saudaraku tersayang Syamsul Muarif, beserta keluarga besar yang tiada henti-hentinya memberikan do'a, semangat, motivasi, dan nasehat-nasehat dengan penuh keikhlasan, kesabaran serta kasih sayang yang tiada tara. Kalian merupakan pahlawan yang sangat berjasa, semoga jasa-jasamu dapat terbalaskan, aamiin.

Penulis menyadari sepenuhnya, dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari hambatan dan tantangan. Namun berkat kerja keras dan motivasi dari pihak-pihak langsung maupun tidak langsung yang memperlancar jalannya penyusunan

skripsi ini. Olehnya itu, secara mendalam saya menyampaikan banyak terima kasih kepada semua yang membantu dalam penyelesaian skripsi ini diantaranya :

1. Prof. Dr. H. Musafir Pababbari, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar serta sejarannya.
2. Prof. Dr. A.Qadir Gassing HT.,MS., selaku Rektor periode 2011-2015 Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar.
3. Prof. Dr. H. Arifuddin Ahmad, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar dan sejarannya.
4. Dr. Mashuri Masri, S.Si., M.Kes., selaku Ketua Jurusan Biologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.
5. Baiq Farhatul Wahidah, S.Si., M.Si., selaku Sekretaris Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.
6. Hafsani, S.Si., M.Pd sebagai Dosen Pembimbing I dan Eka Sukmawaty S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing II yang sabar memberikan bimbingan, arahan, masukan, dan telah meluangkan waktu membimbing penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
7. Prof. Dr. H. Arifuddin Ahmad, M.Ag., Fatmawati Nur, S.Si., M.Si., dan Ar.Syarif Hidayat., S.Si., M.Kes., selaku Dosen Penguji yang telah banyak memberikan masukan yang sangat bermanfaat bagi penelitian dan penulisan skripsi penulis.
8. Seluruh Bapak/Ibu Dosen Pengajar yang selama ini telah mengajarkan banyak hal serta pengetahuan yang berlimpah selama kuliah di kampus ini serta seluruh Staf Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.
9. Kepada seluruh Laboran Laboratorium Jurusan Biologi FST UIN Alauddin Makassar yang memberikan ilmu, arahan, dan membantu selama penelitian ini.
10. Kepala perpustakaan beserta sejarannya, terima kasih atas bantuannya selama ini.
11. Spesial untuk “FITASE TEAM” yang selalu setia menemani dan saling menyemangati serta memberikan dukungan pada penulis.

12. Spesial untuk sahabatku Yuyun, Nunu, dan Ety suka dan duka hidup sebagai mahasiswa kita rasakan bersama dan selalu setia menemani penulis, terima kasih atas do'a dan dukungannya.
13. Teman-temanku tersayang angkatan 2013 “BRACHIALIS 2013” yang telah memberikan dukungan dan motivasi serta banyak kenangan yang tak terlupakan selama ini bagi penulis.
14. Teman-teman KKN Desa Maradekaya Kecamatan Bajeng yang sudah seperti saudara sendiri (Rahma, Dian, Ullah, Aziz dan Enni) yang telah memberi semangat pada penulis, kalian luar biasa.
15. Adik-adik angkatan 2014 terima kasih atas dukungan dan doanya selama ini.
16. Serta seluruh pihak terkait yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas doa, semangat, dukungan, saran dan pemikiran yang diberikan kepada penulis.

Akhirnya dengan segala kerendahan hati saya menyadari bahwa hanya kepada ALLAH swt jualah saya menyerahkan segalanya. Semoga kita semua mendapat curahan & Rihdo dari-Nya, Aamiin...

Makassar, 26 Juli 2017  
Penulis

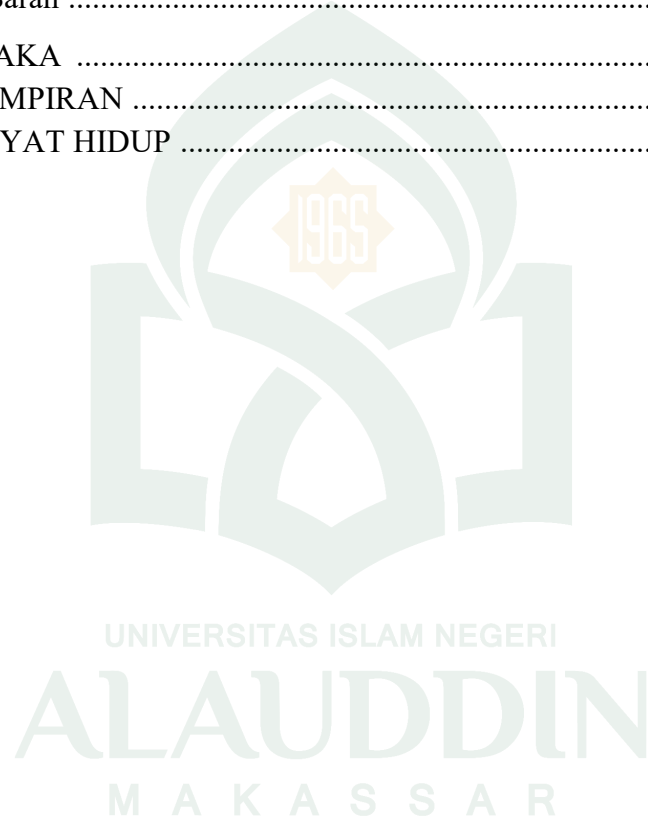
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
**ALA UDDIN**  
M A K A S S A R  
**N u r h i k m a h**  
**NIM: 60300113061**

## DAFTAR ISI

JUDUL .....	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	ii
PENGESAHAN SKRIPSI .....	iii
PERSETUJUAN PEMBIMBING .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v-vii
DAFTAR ISI .....	viii-ix
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
ABSTRAK .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
 BAB I     PENDAHULUAN .....	 1-10
A. Latar Belakang .....	1-6
B. Rumusan Masalah .....	6
C. Ruang Lingkup Penelitian .....	7
D. Kajian Pustaka .....	7-9
E. Tujuan Penelitian .....	9
F. Kegunaan Penelitian .....	9-10
 BAB II    TINJAUAN TEORITIS .....	 11-38
A. Ayat dan Hadits yang Relevan .....	11-14
B. Tinjauan Umum Bakteri Endofit .....	15-17
C. Tinjauan Umum Jagung ( <i>Zea mays</i> ) .....	18-26
D. Tinjauan Umum Asam Fitat .....	26-31
E. Tinjauan Umum Enzim Fitase .....	31-36
F. Tinjauan Umum Bakteri Penghasil Fitase .....	36-37
G. Kerangka Pikir .....	38
 BAB III   METODOLOGI PENELITIAN .....	 39-45
A. Jenis dan Lokasi Penelitian .....	39
B. Pendekatan Penelitian .....	39
C. Variabel Penelitian .....	39
D. Definisi Operasional Variabel .....	39-40
E. Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan) .....	39-40



	F. Prosedur Kerja.....	40-45
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	46-69
	A. Hasil Penelitian .....	45-51
	B. Pembahasan .....	52-69
BAB V	PENUTUP .....	70-71
	A. Kesimpulan .....	70
	B. Saran .....	71
	DAFTAR PUSTAKA .....	72-80
	LAMPIRAN-LAMPIRAN .....	81-97
	DAFTAR RIWAYAT HIDUP .....	98



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.Kandungan fitat pada beberapa jenis biji tanaman serealialia .....	28
Tabel 2.2.Pengelompokkan fitase berdasarkan bentuknya .....	34
Tabel 4.1.Hasil isolasi dan seleksi bakteri endofit penghasil fitase dari tanaman jagung ( <i>Zea mays</i> ) .....	47
Tabel 4.2.Pengamatan Makroskopik koloni isolat bakteri endofit penghasil fitase dari tanaman jagung ( <i>Zea mays</i> ).....	49
Tabel 4.3.Pengamatan mikroskopik lima koloni isolate bakteri endofit penghasil fitase yang terpilih dari tanaman jagung ( <i>Zea mays</i> ) .....	50
Tabel 4.4.Hasil uji biokimia pada lima koloni isolate bakteri endofit penghasil fitase yang terpilih dari tanaman jagung ( <i>Zea mays</i> ) .....	51-52



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.Morfologi Jagung .....	19
Gambar 2.2.Struktur Asam Fitat .....	27
Gambar 4.1.Aktivitas fitatik Isolat yang membentuk zona bening disekitar Koloni Bakteri .....	48



## ABSTRAK

**Nama : Nurhikmah**  
**NIM : 60300113061**  
**Judul Skripsi : “Isolasi dan Skreening Bakteri Endofit Penghasil Enzim Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)”**

---

Asam fitat ( $C_6H_{18}O_{24}P_6$ ) merupakan senyawa kimia yang terdiri atas *inositol* dan *asam fosfat*, asam fitat merupakan senyawa yang selalu terdapat pada bahan pakan yang berasal dari tanaman serealia dan merupakan senyawa yang tidak dapat didigesti oleh ternak monogastrik, sehingga dibutuhkan enzim fitase yang dapat menghidrolisis asam fitat. Fitase (*myo-inositol heksakisfosfat fosfohidrolase*) adalah enzim yang dapat menghidrolisis ikatan fosfoester pada asam fitat, menghasilkan *fosfat* anorganik dan *ester fosfat*. Enzim fitase dapat dihasilkan oleh mikroorganisme, pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah tanaman serealia yaitu tanaman jagung (*Zea mays*). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan skreening bakteri endofit dari tanaman jagung (*Zea mays*) yang dapat menghasilkan enzim fitase, dan akan dikarakterisasi biokimia. Isolasi dilakukan dari masing-masing organ tanaman jagung (*Zea mays*) dengan metode cawan sebar pada media LB (*Luria Bertani*), dan kemudian diseleksi pada media selektif PSM (*Phytase Selektif Medium*) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari, zona bening yang terbentuk disekitar koloni sebagai indikator bahwa isolat tersebut dapat menghasilkan enzim fitase. Dari hasil isolasi didapatkan 10 isolat yang memiliki aktivitas fitase. Empat isolat yang memiliki indeks fitatik tertinggi berasal dari masing-masing organ yakni dari akar 10<sup>-7</sup> HF.7 (IF=1,365 cm), batang 10<sup>-7</sup> HF.2 (IF=1,095 cm), daun 10<sup>-6</sup> HF.3 (IF=1,36 cm) dan biji 10<sup>-8</sup> HF.1 (IF=0,98 cm). hasil dari karakterisasi biokimia menunjukkan bahwa isolat akar 10<sup>-7</sup> HF.7 adalah genus *bulkholderia* sp, batang 10<sup>-7</sup> HF.2 adalah genus *pantoea* sp, daun 10<sup>-6</sup> HF.3 dan biji 10<sup>-8</sup> HF.1 adalah genus *Enterobacter* sp.

Kata kunci: Endofit, Fitat, Fitase, *Bulkholderia* sp, *Pantoea* sp, *Enterobacter* sp.

## ABSTRACT

Name : Nurhikmah

SIN : 60300113061

Minithesis Title : “Isolation and Screening of Bacteria Endofitik Producing Enzyme Fitase from Plant Corn (*Zea mays*)”

---

Phytic acid ( $C_6H_{18}O_{24}P_6$ ) is a chemical compound that consist of inositol and phosphoric acid, phytic acid is a compound that is always present in the feed material derived from cereal plants and is a compound that can not be digigesti by monogastric livestock, so that the required phytase enzyme that can hydrolyze the acid phytid. Phytid (myo-inositol hexakisfosfat phosphohidrolase) is an enzyme that can hydrolyze phosphoester bonds on phytic acid, producing inorganic phosphate and phosphate ester. Phytase enzyme can be produced by microorganisms, in this study the sample used is cereals plant corn (*Zea mays*). This study aims to isolate and screen for endophytic bacteria from corn plants (*Zea mays*) that can produce phytase enzymes, and will be characterized by biochemistry. The isolation was carried out for each plant organ of maize (*Zea mays*) by dispersion plate method on LB medium (*Luria Bertani*), and then selected on selective medium of PSM (*Phytase Selective Medium*) and incubated at 37°C for 3 days, transparent zone that formed indicator that the isolates can produce fitase enzymes. From the isolation result, there were 10 isolates that had fitase activity. The four isolates which have the highest phytic index were from each organ ie from root  $10^{-7}$  HF.7 (IF = 1,365 cm), stem  $10^{-7}$  HF.2 (IF = 1,095 cm), leaf  $10^{-6}$  HF.3 (IF = 1.36 cm) and seed  $10^{-8}$  HF.1 (IF = 0.98 cm). The results of biochemical characterization indicate that isolates of root  $10^{-7}$  HF.7 is THE genus *Bulkholderia* sp, stem  $10^{-7}$  HF.2 is the genus *Pantoea* sp, leaf  $10^{-6}$  HF.3 and seed  $10^{-8}$  HF.1 is the genus *Enterobacter* sp.

Keywords: *Endophytic*, *phytate*, *phytase*, *Bulkholderia* sp, *Pantoea* sp, *Enterobacter* sp.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### ***A. Latar Belakang***

Sebagai umat islam hendaknya kita dapat memahami al-Qur'an sebagai pedoman hidup umat islam. Dalam al-Qur'an telah diterangkan segala sesuatu yang perlu dikaji dan dipahami. Allah swt. menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi tidak sia-sia, kesemuanya diciptakan oleh Allah swt. beraneka ragam bentuknya, serta memiliki manfaat yang berbeda-beda pula. Sesuai dengan ayat al-Qur'an surah An-Nahl ayat 13.

Q.S. An-Nahl/16:13 yang berbunyi:

وَمَا ذَرَأَ لَكُمْ فِي الْأَرْضِ مُخْتَلِفًا أَلْوَنُهُ ۖ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ  
يَذْكُرُونَ ﴿١٣﴾

Terjemahnya:

Dan Dia (menundukkan pula) apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran” (Kementerian Agama RI 2012).

Berdasarkan Tafsir Al-Misbah (2002), menjelaskan *Dan*, selain aneka anugerah yang disebut sebelum ini, Allah swt. juga menundukkan apa yang Dia ciptakan untuk kamu di bumi ini dengan berlain-lainan macamnya yang mencakup warna, jenis, bentuk dan cirinya. Sesungguhnya pada yang *demikian itu benar-benar*

*terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang mengambil pelajaran bagi yang merenung, perenungan yang dilakukannya tidak terlalu mendalam, sebagaimana dipahami dari kata yazzakkarun. Kata Dzara'a dipahami dalam arti penciptaan dalam bentuk pengembangbiakan dengan cara apa pun. Dengan demikian, tidak termasuk dalam pengertian kata ini penumbuhan tumbuhan. Tetapi, ada juga ulama yang memperluas makna kata ini sehingga mencakup banyak hal seperti tumbuh-tumbuhan, gunung, batu-batuan dan barang tambang yang beragam warna, bentuk dan cirinya. Pengamatan yang menyangkut makhluk yang bersumber dari bumi memerlukan pemikiran, yaitu penggunaan nalar yang menghasilkan ilmu, sedang pengamatan terhadap objek-objek yang bersumber dari pengembangbiakan dan yang beraneka macam warna dan jenisnya itu memerlukan pengamatan lebih serius dari objek yang lalu karena ia berkaitan dengan keanekaragaman keadaan, pengembangbiakan dan manfaat-manfaatnya sehingga di sini yang diperlukan yakni pemikiran yang disertai ingatan tentang jenis, perbedaan, dan ciri-ciri masing-masing.*

Berdasarkan tafsir hubungan ayat tersebut dengan penelitian yakni menjelaskan bahwa Allah swt. menciptakan segala sesuatu dengan bermacam-macamnya yang meliputi bentuk, warna, ukuran dan ciri. Sehingga begitu jelas bahwa makhluk yang tak dapat dilihat oleh kasat matapun telah diciptakan oleh Allah dan memiliki manfaat bagi manusia, sehingga diperlukannya penelitian penelitian yang dapat mengeksplor ciptaan Allah tersebut.

Seperti pada penelitian ini, peneliti akan memanfaatkan tanaman jagung (*Zea mays*) sebagai sampel penelitian yang kemudian akan dihasilkan mikroorganisme endofit penghasil enzim fitase yang bermanfaat untuk menghidrolisis asam fitat pada pakan ternak, seperti yang diketahui bahwa hewan monogastrik tidak dapat menghidrolisis asam fitat yang terdapat pada pakan ternak, sehingga sangat pentingnya peranan enzim fitase untuk menghidrolisis asam fitat.

Hewan unggas seperti hewan monogastrik mempunyai banyak manfaat bagi manusia. Di Indonesia, hewan monogastrik yang paling banyak digemari oleh masyarakat yakni ayam. Daging ayam sangat digemari oleh masyarakat karena merupakan salah satu sumber protein hewani, dengan demikian peningkatan hasil subsektor peternakan sudah sewajarnya dilakukan untuk mengimbangi peningkatan kebutuhan masyarakat Indonesia (Haryadi, 2007). Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi yaitu dengan cara meningkatkan nutrisi dalam pakan ternak tersebut. Pakan ternak berasal dari tanaman sereal, namun didalam tanaman sereal terdapat asam fitat yang merupakan zat antinutrisi bagi unggas.

Asam fitat merupakan bentuk utama penyimpanan fosfat di dalam tanaman biji-bijian, sereal dan *leguminose* yang digunakan dalam bahan makanan manusia maupun makanan ternak (Sari, 2012). Dilihat dari sudut pandang tanaman, fitat penting untuk pertumbuhan biji dan turut berperan dalam meningkatkan hasil panen. Namun, dilihat dari sudut pandang hewan monogastrik, fitat merupakan komponen anti nutrisi (Sari, 2012). Asam fitat tidak dapat dihidrolisis dalam saluran



pencernaan hewan monogastrik dan asam fitat tersebut akan berasosiasi dengan garamnya membentuk senyawa kompleks yang tidak larut sehingga menghambat penyerapan mineral di dalam tubuh. Kekurangan mineral di dalam tubuh dapat menyebabkan gangguan metabolisme yang dapat menyebabkan berbagai jenis penyakit (Sari, 2012). Serta karena adanya asam fitat menyebabkan beberapa mineral dan protein menjadi tidak terlarut sehingga tidak dapat diserap oleh usus manusia dan hewan monogastrik (Liu, *et al.*, 2005 dalam Sari, 2012).

Asam fitat yang dikenal dengan anti nutrisi dapat diuraikan menjadi *mioinositol* dan gugus fosfat melalui serangkaian reaksi enzimatik oleh enzim fitase (*mioinositol heksafosfat fosfohidrolase*). Penguraian ini sekaligus melepaskan mineral-mineral dan senyawa-senyawa lain yang diikatnya (Bohn, *et al.*, 2008 dalam Amelia, 2010). Oleh sebab itu, enzim ini dapat digunakan sebagai suplemen pada pakan ternak dan ikan. Dengan demikian unsur P dan bahan nutrisi lainnya bisa dimanfaatkan secara optimal oleh hewan-hewan monogastrik dan tidak perlu adanya tambahan P anorganik ke dalam pakan yang pada akhirnya mengurangi polusi fosfat dari buangan hewan (Amelia, 2010).

Fitase (*myoinositol heksakisfosfat fosfohidrolase*) adalah enzim *fosfatase* yang bekerja pada ikatan *ester* (*phosphoric monoester hydrolase*) yang memotong gugus fosfat dari asam fitat (Amelia, 2010). Fitase atau *myo inositol heksakisfosfat fosfohidrolase* adalah enzim yang dapat menghidrolisis ikatan *fosfoester* pada asam fitat, menghasilkan fosfat anorganik dan *ester fosfat*. Fitase banyak dimanfaatkan dalam industri pangan dan pakan ternak. Adanya fitase pada bahan pakan ternak

akan meningkatkan kualitas nutrisi pakan ternak dan mengurangi polusi fosfat (Sari, 2012).

Ketiadaan enzim fitase pada saluran pencernaan monogastrik menyebabkan kandungan senyawa fitat tidak bisa dicerna, sehingga senyawa fitat terbuang bersama kotoran ke lingkungan (Shin *et al.*, 2001). Sumber limbah ternak yang mengandung P tersebut merupakan sumber polusi (Daniel *et al.*, 1988). Kandungan P dari sisa limbah ternak akan berasosiasi dengan tanah dan dapat mengakibatkan pendangkalan pada sungai dan danau, yang pada akhirnya akan mengganggu sistem sirkulasi air (DeBoer *et al.*, 1997). Fitase terdapat di dalam tumbuhan dan mikroorganisme. Fitase yang terdapat pada tumbuhan dapat diisolasi dan dikarakterisasi dari tanaman serealialia diantaranya adalah gandum, kedelai, jagung, rerumputan, bunga lili, padi-padian kacang-kacangan dan wortel (Sajidan, 2004).

Aktivitas spesifikasi fitase dari tanaman ternyata jauh lebih kecil dibanding fitase dari mikroorganisme (Sajidan, 2004), sehingga fitase yang berasal dari mikroorganisme semakin dapat diterima untuk diaplikasikan dalam pakan dan sangat efektif dalam meningkatkan ketersediaan fosfor bagi hewan serta mengurangi polusi yang diakibatkan oleh pelepas fitat ke lingkungan (Kusharyoto, 2010). Salah satu mikroorganisme yang dapat menghasilkan aktivitas spesifikasi fitase yang tinggi yaitu mikroorganisme yang terdapat didalam jaringan tanaman *serealialia* itu sendiri yang disebut juga dengan mikroorganisme endofit .

Kemampuan bakteri endofit menghasilkan senyawa aktif tersebut merupakan potensi yang dapat dikembangkan mengingat umumnya senyawa aktif diperoleh

dengan mengekstraksi tanaman untuk memperoleh senyawa aktif dari tanaman di butuhkan waktu dan proses yang lebih rumit dibandingkan jika mengekstraksi senyawa dari bakteri (Purwanto, *et al.*, 2014).

Pentingnya peranan enzim fitase untuk menghidrolisis asam fitat, serta lebih tingginya aktivitas enzim fitase yang dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri endofit dibandingkan dengan tanaman, sehingga perlunya dilakukan penelitian untuk mendapatkan isolat bakteri endofit dari salah satu tanaman *serealia* yang menghasilkan fitase. Berdasarkan hal ini, maka dilakukan penelitian yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofitik Penhgasil Enzim Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)”.

## **B. Rumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapa isolat bakteri yang mampu menghasilkan enzim fitase dari tanaman jagung (*Zea mays*)?
2. Bagaimana ciri makroskopik dan mikroskopik bakteri penghasil enzim fitase dari tanaman jagung (*Zea mays*)?
3. Bagaimana karakteristik biokimia bakteri penghasil enzim fitase dari tanaman jagung (*Zea mays*)?

### **C. Ruang Lingkup Penelitian**

Penelitian ini dibatasi hanya untuk mengisolasi akar, batang, daun dan biji jagung (*Zea mays*) yang berumur 80-110 hari, menyeleksi dan mengamati secara makroskopik dan mikroskopik serta karakterisasi biokimia isolat dengan indeks fitatik tertinggi bakteri penghasil enzim fitase dari tanaman jagung (*Zea mays*).

### **D. Kajian Pustaka**

Dalam kajian pustaka dibahas beberapa temuan hasil penelitian sebelumnya untuk melihat kejelasan arah, orisinalitas dan posisi dari penelitian ini, dibandingkan dengan beberapa temuan penelitian yang dilakukan sebelumnya yaitu sebagai berikut:

1. Hussin, *et al.*, (2007) telah mengisolasi bakteri endofit penghasil fitase asal akar jagung dalam penelitiannya Phytate-degrading enzyme production by bacteria isolated from Malaysian soil, dengan mendapatkan beberapa spesies *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus xylosus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides*, *Brevibacillus laterosporus* dan *Kocuria varians*, dan spesies *Staphylococcus lentus* ASUIA 279 adalah spesie dengan aktivitas phytase tertinggi 1,913 U / ml.
2. Amelia Roswita (2010), dalam penelitiannya melakukan karakterisasi isolat bakteri penghasil fitase asal kutu jagung (*Sitophilus zea mays*), mendapatkan hasil bahwa isolat-isolat yang telah diisolasi memiliki kekerabatan dengan bakteri-

bakteri enterik dan gram negatif lainnya dan sangat jauh dengan bakteri gram positif yang diwakili oleh *Bacillus subtilis*.

3. Identifikasi Bakteri Penghasil Fitase Dan Karakterisasi Fitase Dari Kawah Sikidang Dieng, isolat yang memiliki aktifitas tertinggi yaitu *Bacillus cereus* 0,32893 U/ml, penelitian ini telah dilakukan oleh (Sari, *et al.*, 2013).

4. Sajidan (2013) telah mengisolasi bakteri penghasil fitase dari tanah dalam penelitiannya Keberadaan Bakteri Penghasil Fitase Untuk Perbaikan Kesuburan Tanah Vertisol Pada Berbagai Sistem Budidaya Tanam di Kecamatan Gondangrejo Kabupaten Karanganyar dan mendapatkan hasil yaitu isolat terpilih aktif pada kondisi suhu sampai 70°C ada sebanyak 22 isolat yang merupakan mikroorganisme termofilik.

5. Singh, *et al.*, (2012) dalam penelitiannya Isolation of Phytase Producing Bacteria and Optimization of Phytase Production Parameters telah mengisolasi bakteri penghasil fitase dari tanah, mendapatkan sebanyak 32 isolat bakteri penghasil fitase, yang memiliki aktivitas tertinggi yaitu *Bacillus subtilis* dengan aktivitas fitase 378U/mL.

6. Haryadi (2007) telah melakukan penelitian yaitu pemanfaatan bakteri *Pantoea agglomerans* penghasil fitase dalam ransum terhadap kualitas karkas ayam broiler dengan hasil bakteri *Pantoea agglomerans* dalam ransum sampai level 105 CFU/ml belum dapat meningkatkan kualitas karkas dan lemak abdominal ayam broiler.

7. Susanna *et al.*, (2000), dalam penelitiannya melakukan seleksi kapang penghasil enzim fitase, hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa dari 60 isolat yang telah dikumpulkan tersebut, ternyata *Aspergillus ficuum*, *Aspergillus niger* dan *Aspergillus flavus* bereaksi positif terhadap aktivitas fitase.

#### **E. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebaga berikut:

1. Untuk mengetahui jumlah isolat bakteri yang mampu menghasilkan enzim fitase dari tanaman jagung (*Zea mays*)
2. Untuk mengetahui ciri makroskopik koloni dan mikroskopik sel isolat bakteri penghasil enzim fitase dari tanaman jagung (*Zea mays*).
3. Untuk mengetahui karakteristik biokimia isolat bakteri penghasil enzim fitase dari tanaman jagung (*Zea mays*).

#### **F. Kegunaan Penelitian**

Adapun kegunaan yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberi informasi mengenai bakteri yang dapat menghasilkan enzim fitase dari tanaman jagung (*Zea mays*) agar dapat digunakan sebagai isolat penghasil enzim fitase sehingga enzim fitase dapat dihasilkan dan dimanfaatkan untuk pakan ternak.

2. Sebagai langkah awal untuk suplementasi pakan ternak yang meningkatkan serapan nutrisi ternak.
3. Menjadi refrensi untuk penelitian lain yang relevan dengan penelitian ini.



## BAB II

### TINJAUAN TEORITIS

#### A. Ayat yang Relevan

1. Q.S. Ali-Imran/03:191 yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ  
السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ



Terjemahnya:

(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka" (Kementerian Agama RI 2012)

Menurut Tafsir Al-Misbah (2002) ayat diatas menjelaskan mereka adalah *orang-orang*, baik laki-laki maupun perempuan, *yang terus- menerus mengingat Allah*, dengan ucapan dan atau hati dalam seluruh situasi dan kondisi saat bekerja atau istirahat, *sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring*, atau bagaimanapun *dan mereka memikirkan tentang penciptaan*, yakni kejadian sistem kerja langit dan bumi dan setelah itu berkata sebagai kesimpulan: “*Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan alam raya dan segala isinya ini dengan sia-sia*, tanpa tujuan dan hak . Dari penjelasan tersebut terlihat objek zikir adalah Allah, sedangkan objek pikir adalah makhluk-makhluk Allah berupa fenomenan alam. Ini berarti



pengenalan kepada Allah lebih banyak didasarkan kepada kalbu, sedang pengenalan alam raya oleh penggunaan akal, yakni berfikir. Akal memiliki kebebasan seluas-luasnya untuk memikirkan fenomena alam, tetapi ia memiliki keterbatasan dalam memikirkan Zat Allah. Karena itu, dapat dipahami sabda Rasulullah SAW, yang diriwayatkan oleh Abu Nu'aim melalui Ibn 'Abbas, “Berfikirlah tentang makhluk Allah dan jangan berfikir tentang Allah”

Kaitan ayat ini dengan penelitian yaitu sebagai makhluk Allah hendaknya menggali ilmu untuk mengetahui lebih banyak lagi ciptaan Allah berdasarkan penggalan ayat “bagaimanapun *dan mereka memikirkan tentang penciptaan*”. Sehingga manusia dapat memahami dan menemukan segala sesuatu yang telah diciptakan oleh Allah swt, yang dapat dimanfaatkan oleh seluruh makhluk Allah, sehingga manusia dapat memahami ciptaan Allah yang akan membuat manusia lebih meningkatkan keimanan terhadap Allah swt sesuai dengan penggalan ayat “*Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan alam raya dan segala isinya ini dengan sia-sia, tanpa tujuan dan hak*”. Seperti pada penelitian ini, peneliti mencoba menemukan mikroorganisme bakteri yang dapat menghasilkan enzim fitase yang akan bermanfaat bagi pakan ternak, dan dengan penemuan-penemuan para peneliti tentang ciptaan Allah, sehingga makhluk Allah mempercayai bahwa ciptaan-Nya tidak ada yang sia-sia dan Allah menciptakan segala makhluk-Nya dengan adil.

2. Q.S. Al-Fushilat /41: 53 yang berbunyi:

سَنُرِيهِمْ ءَايَاتِنَا فِي الْأَفَاقِ وَفِي أَنْفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَتَبَيَّنَ لَهُمْ أَنَّهُ الْحَقُّ ۗ أَوَلَمْ يَكْفِ بِرَبِّكَ أَنَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ شَهِيدٌ ﴿٥٣﴾

Terjemahnya:

Kami akan memperlihatkan kepada mereka tanda-tanda (kekuasaan) Kami di segala wilayah bumi dan pada diri mereka sendiri, hingga jelas bagi mereka bahwa Al Quran itu adalah benar. Tiadakah cukup bahwa Sesungguhnya Tuhanmu menjadi saksi atas segala sesuatu?” (Kementerian Agama RI 2012)

Menurut Tafsir Al-Misbah (2002), ayat diatas menjanjikan bantuan bagi yang hendak berfikir secara objektif. Allah berfirman: *Kami akan memperlihatkan kepada mereka dalam waktu yang tidak terlalu lama ayat-ayat, yakni tanda-tanda kekuasaan serta kebenaran firman-firman, kami di segala wilayah bumi dan pada diri mereka sendiri, hingga jelas bagi mereka, yakni al-Qur'an itu, adalah benar.* Apakah mereka tidak menggunakan akal fikiran mereka untuk memahami bukti-bukti yang terdapat didalam al-Qur'an. *Kami di segala wilayah bumi dan pada diri mereka sendiri, hingga jelas bagi mereka* diartikan bahwa yang diperlihatkan oleh Allah itu adalah rahasia-rahasia alam serta keajaiban ciptaan-Nya pada diri manusia yang diungkap melalui penelitian dan pengamatan ilmuwan, dan yang kesemuanya membuktikan keesaan dan kekuasaan-Nya, sekaligus menunjukkan kebenaran informasi al-Qur'an. Allah telah mengungkap untuk manusia ayat-ayat-Nya sepanjang 14 abad sejak penyampaian janji ini, Dia ayat-ayat-Nya yang terdapat pada manusia, dan sampai kini masih saja Allah mengungkapnya Karena setiap saat lahir suatu penemuan-

penemuan baru yang belum dikenal sebelumnya yang menyangkut alam. Penggunaan kata *Kami* dalam Firman-Nya “*Kami akan memperlihatkan kepada mereka*” mengisyaratkan perlunya keterlibatan manusia melalui para ulama dan cendekiawan guna menemukan dan menunjukkan tanda-tanda kebesaran Allah dan kebenaran al-Qur’an.

Berdasarkan tafsir kaitan ayat ini dengan penelitian yakni, di muka bumi terdapat segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT, sebagai tanda-tanda kekuasaan Allah, sehingga manusia dapat menggali dan menemukan penemuan-penemuan tentang ciptaan-Nya, hingga jelas bagi makhluk-Nya bahwa al-Qur’an adalah benar, melalui penelitian-penelitian yang dilakukan oleh manusia untuk membuktikan isi dalam al-Qur’an tersebut, sehingga lebih meningkatkan keimanan manusia atas segala rahasia dan ciptaan Allah swt. Seperti pada penelitian ini yang mencakup tentang tanaman jagung yang didalamnya terdapat bakteri endofit penghasil fitase yang dapat dimanfaatkan untuk menghidrolisis asam fitat yang juga terkandung dalam jagung itu sendiri, meskipun tidak disebutkan secara langsung oleh al-Qur’an, tetapi penggunaan kata *Kami* dalam Firman-Nya “*Kami akan memperlihatkan kepada mereka*” mengisyaratkan perlunya keterlibatan manusia melalui para ulama dan cendekiawan guna menemukan dan menunjukkan tanda-tanda kebesaran Allah dan kebenaran al-Qur’an.

## **B. Tinjauan Umum Bakteri Endofit**

Mikroorganisme di alam memiliki keanekaragaman yang berlimpah dan juga memiliki peranan yang luar biasa dalam berbagai bidang kehidupan manusia, termasuk dalam bidang pertanian. Mikroorganisme dialam dapat terbagi atas mikroorganisme simbiotik dan nonsimbiotik. Mikroorganisme nonsimbiotik adalah mikroorganisme yang hidup bebas dan mandiri dalam tanah (Pelczar & Chan, 2006 dalam Khairani, 2010). Sedangkan mikroorganisme simbiotik adalah mikroorganisme yang berinteraksi dengan tanaman seperti mikroorganisme endofit (Khairani, 2010).

Endofit berasal dari bahasa Yunani, “*endo*” berarti dalam dan “*fit*” (Phyte) berarti tumbuhan (Barbara dan Christine, 2006 dalam Pratiwi, 2015). Mikroorganisme endofit merupakan mikroorganisme yang bersimbiosis mutualisme dengan tanaman (Harni, 2014). Mikroorganisme endofit didefinisikan sebagai mikroorganisme yang didalam siklus hidupnya berada dalam jaringan tanaman dan dapat membentuk koloni tanpa menimbulkan kerusakan pada tanaman tersebut (Strobel *et al.*, 2003 dalam Khairani, 2009).

Dari sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di permukaan bumi ini, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroorganisme endofit yang terdiri dari bakteri dan jamur. Sehingga mikroorganisme endofit dapat menjadi sumber berbagai produk metabolit sekunder baru yang berpotensi untuk dikembangkan dalam bidang medis, pertanian dan industri (Radji, 2004 dalam Khairani, 2009). Bakteri mempunyai kemampuan untuk beradaptasi dengan

lingkungan dan merupakan salah satu faktor penyelamat yang melestarikan suatu spesies dari seleksi alamiah (Hanafiah *et al.*, 2005).

Tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa bakteri endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi, atau metabolit sekunder. Diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam bakteri endofit sepanjang waktu evolusinya (Tan & Zhou, 2001 dalam Radji, 2005 dalam Rosita, 2012). Proses masuknya mikroba endofit ke dalam jaringan tanaman inang terjadi secara langsung dan tidak langsung. Secara langsung ditandai dengan masuknya endofit ke dalam bagian internal jaringan pembuluh tanaman dan diturunkan melalui biji, sedangkan secara tidak langsung mikroba endofit hanya menginfeksi bagian eksternal yaitu pada bagian pembungaan (Bacon, 1985 dalam Pratiwi, 2015).

Mekanisme invasi bakteri endofitik ke dalam jaringan tanaman dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain masuk melalui stomata, lentisel, luka alami, trachoma yang rusak, titik tumbuh akar lateral, radikula yang sedang tumbuh, jaringan akar meristematik yang tidak terdiferensiasi, serangan pada dinding sel rambut akar, melalui enzimatis hidrolisis ikatan polisakarida dinding sel. Jalan alternatif lainnya diduga bakteri masuk melalui penyerapan unsur hara tanaman secara pasif akibat transpirasi tanaman (Quadt-Hallmann, *et al.*, 1997 dalam Pranoto *et al.*, 2014).

Interaksi mikroba endofit dengan inangnya yang ditemukan pada organ tumbuhan tertentu berhubungan erat dengan siklus hidup yang dilaluinya. Masuknya

mikroba endofit pada jaringan tanaman inang tergantung pada keberhasilan mikroba tersebut menembus lapisan eksternal inangnya (Bacon dan Siegel, 1990 dalam Pratiwi, 2015) Mekanisme interaksi simbiosis antara tanaman dengan bakteri endofitik adalah terjadinya pertukaran nutrisi dimana bakteri memfiksasi  $N_2$  menjadi tersedia bagi tanaman dalam bentuk  $NH_3$  serta menghasilkan fitohormon berupa IAA, Sitokinin, dan berbagai senyawa lainnya. Tanaman mentransferkan karbon/gula dan asam amino, jenis gula terutama sukrosa dan glukosa untuk bakteri endofitik (Usuki dan Narisawa, 2007 dalam Pranoto *et al.*, 2014).

Pada umumnya bakteri endofit mengkolonisasi ruang antar sel, dan di dalam sel, tetapi hanya sedikit sekali yang dilaporkan mengkolonisasi jaringan pembuluh. Kolonisasi bakteri endofit dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya faktor geografis, spesies tanaman, genotip tanaman dan teknik budidaya (Harni, 2014). Mikroba endofit ini juga ditemukan pada berbagai varietas tanaman inang di seluruh dunia, termasuk pada pohon, semak, rumput-rumputan, lumut, tumbuhan paku dan lumut kerak (Clay, 1991 dalam Rosita, 2012). Mikroba endofit meningkatkan adaptasi ekologi inangnya dengan menaikkan toleransi mereka pada “stress” lingkungan (lingkungan yang kurang menguntungkan) dan juga menaikkan resistensi inangnya terhadap fitopatogen dan atau herbivora termasuk serangga yang memakan tanaman inang. Mikroba endofit juga melindungi inangnya dari serangan bakteri atau fungi patogen dari lingkungannya disekitarnya (Tan dan Zou, 2001 dalam Priharta, 2008).

### ***C. Tinjauan Umum Jagung (Zea mays)***

Menurut Tjitrosoepomo, 1991 tanaman jagung dalam tata nama atau sistematika (Taksonomi) tumbuh-tumbuhan jagung diklasifikasi sebagai berikut :

Regnum : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Angiospermae

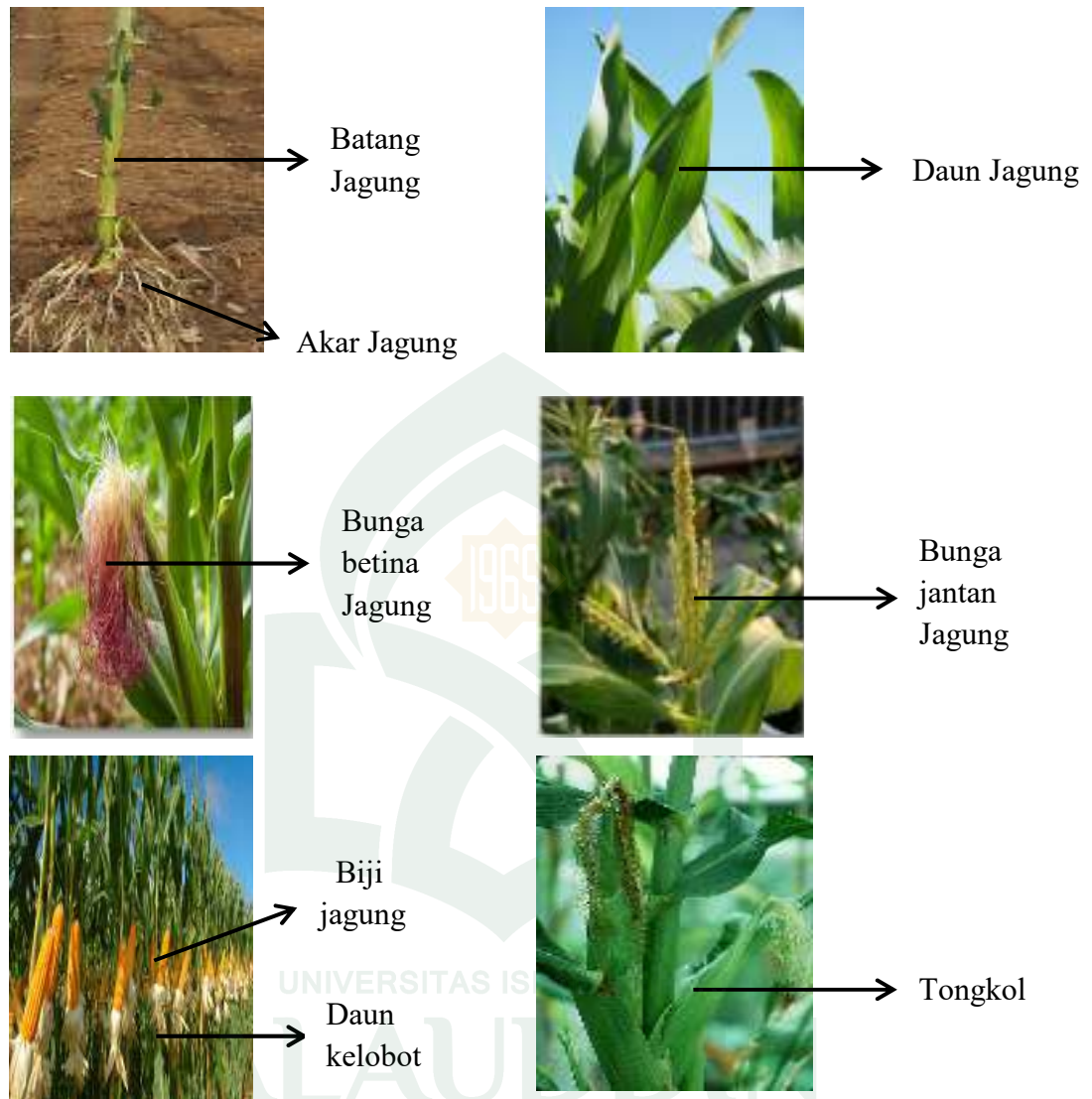
Ordo : Graminae

Famili : Graminaceae

Genus : Zea

Spesies : *Zea mays*

Jagung (*Zea mays*) adalah tanaman semusim (annual), karena hanya mengalami satu siklus hidup dalam 80 hari - 150 hari. Separuh pertama hidupnya adalah tahapan dalam pertumbuhan vegetatif dan setengahnya lagi untuk pertumbuhan secara generatif. Ketinggian batangnya bervariasi, umumnya memiliki ketinggian 1-3 meter, ada juga varietas yang ketinggian batangnya dapat mencapai 6 meter. Hal itu diukur dari permukaan tanah hingga ruang teratas sebelum bunga jantan. Tanaman jagung (*Zea mays*) adalah jenis tanaman biji-bijian dari keluarga rumput-rumputan (*graminacea*) yang sudah lama dikenal di Indonesia .



Gambar 2.1. Morfologi Jagung (Priyowidodo, Titis)



Jagung mempunyai akar serabut dengan tiga macam akar, yaitu (a) akar seminal, (b) akar adventif dan (c) akar kait atau penyangga. Akar seminal adalah akar yang berkembang dari radikula dan embrio. Pertumbuhan akar seminal akan melambat setelah *plumula* muncul ke permukaan tanah dan pertumbuhan akar seminal akan berhenti pada fase V3. Akar adventif adalah akar yang semula berkembang dari buku di ujung *mesokotil*, kemudian setelah akar adventif berkembang dari tiap buku secara berurutan dan terus keatas antara 7-10 buku, semuanya di bawah permukaan tanah. Akar adventif berkembang menjadi serabut akar tebal. Akar seminal hanya sedikit berperan dalam siklus hidup jagung. Akar adventif berperan dalam pengambilan air dan hara. Perkembangan akar jagung (kedalaman dan penyebarannya) bergantung pada varietas, pengolahan tanah, fisik dan kimia tanah, keadaan air tanah, dan pemupukan (Syafuruddin, 2002 dalam Rinaldi *et al.*, 2009).

Tanaman jagung mempunyai batang yang tidak bercabang, berbentuk silindris, dan terdiri atas sejumlah ruas dan buku ruas. Pada buku ruas terdapat tunas yang berkembang menjadi tongkol. Dua tunas teratas berkembang menjadi tongkol yang produktif. Batang memiliki tiga komponen jaringan utama, yaitu kulit (*epidermis*), jaringan pembuluh (*bundles vaskuler*), dan pusat batang (*pith*) (Rinaldi *et al.*, 2009).

Daun jagung mulai terbuka sesudah *koleoptil* muncul di atas permukaan tanah. Setiap daun terdiri atas helaian daun, *ligula*, dan pelepah daun yang erat melekat pada batang. Jumlah daun sama dengan jumlah buku batang. Jumlah daun

umumnya berkisar antara 10-18 helai, rata-rata munculnya daun yang terbuka sempurna adalah 3-4 hari setiap daun. Tanaman jagung di daerah tropis mempunyai jumlah daun relatif lebih banyak dibanding di daerah beriklim sedang (temperate) (Rinaldi *et al.*, 2009). Daun jagung muncul dari buku-buku batang, sedangkan pelepah daun menyelubungi ruas batang untuk memperkuat batang. Panjang daun bervariasi antara 30-150 cm dan lebar daun 4-15 cm dengan ibu tulang daun yang sangat keras. Tepi helaian daun halus dan kadang-kadang berombak (Muhadjir, 1988 dalam Rinaldi *et al.*, 2009).

Bunga jantan terletak dipucuk yang ditandai dengan adanya malai atau *tassel* dan bunga betina terletak di ketiak daun dan akan mengeluarkan *stigma*. Bunga jagung tergolong bunga tidak lengkap karena struktur bunganya tidak mempunyai *petal* dan *sepal* dimana organ bunga jantan (*staminate*) dan organ bunga betina (*pestilate*) tidak terdapat dalam satu bunga disebut berumah satu (Rinaldi *et al.*, 2009).

Tanaman jagung mempunyai satu atau dua tongkol, tergantung varietas. Tongkol jagung diselimuti oleh daun kelobot. Tongkol jagung yang terletak pada bagian atas umumnya lebih dahulu terbentuk dan lebih besar dibanding yang terletak pada bagian bawah. Setiap tongkol terdiri atas 10-16 baris biji yang jumlahnya selalu genap. Biji jagung disebut *kariopsis*, dinding *ovari* atau *perikarp* menyatu dengan kulit biji atau *testa*, membentuk dinding buah. Biji jagung terdiri atas tiga bagian utama, yaitu (a) *pericarp*, berupa lapisan luar yang tipis, berfungsi mencegah embrio dari organisme pengganggu dan kehilangan air, (b) *endosperm*, sebagai

cadangan makanan, mencapai 75% dari bobot biji yang mengandung 90% pati dan 10% protein, mineral, minyak, dan lainnya dan (c) embrio (lembaga), sebagai miniatur tanaman yang terdiri atas *plamule*, akar *radikal*, *scutelum*, dan *koleoptil* (Rinaldi *et al.*, 2009).

Jagung (*Zea mays*) merupakan salah satu bahan pangan yang penting di Indonesia karena jagung merupakan sumber karbohidrat kedua setelah beras. Di samping itu, jagung juga merupakan bahan baku industri dan pakan ternak. Kebutuhan jagung di Indonesia untuk konsumsi meningkat sekitar 5,16% per tahun sedangkan untuk kebutuhan pakan ternak dan bahan baku industri naik sekitar 10,87% per tahun (Roesmarkam dan Yuwono, 2002 dalam Ekowati dan Nasir, 2011). Tanaman jagung (*Zea mays*) mempunyai nilai ekonomis tinggi, selain buahnya sebagai sumber protein nabati dan karbohidrat, hasil samping seperti daun, tongkol, dedak jagung dapat dimanfaatkan sebagai komponen pakan ternak. Apabila potensi hasil tanaman jagung yang tinggi tersebut dapat dikembangkan di Indonesia, maka diharapkan tanaman jagung dapat memberikan sumbangan bagi penyediaan hijauan pakan disamping rumput, *leguminosa* dan jerami padi (Kushartono dan Iriani, 2003).

Luas tanaman jagung di Indonesia kira-kira meliputi 2.895.000 hektar pada tahun 2000 dengan jumlah produksi sekitar 7.490.000 ton. Data ini menunjukkan bahwa tanaman jagung merupakan tanaman yang telah diproduksi dan dikonsumsi secara luas. Di Indonesia pada umumnya tanaman jagung diambil

buahnya dan masih merupakan sampingan untuk hijauan pakan ternak (Kushartono dan Iriani, 2003).

Penggunaan jagung untuk pakan telah mencapai 50% dari total kebutuhan. Konsumsi jagung untuk pakan cenderung meningkat dengan rata-rata pertumbuhan pertahun sebesar 11,52%, sementara itu pertumbuhan produksi hanya 6,11%. Dalam kurun waktu lima tahun terakhir (2000-2004), kebutuhan jagung untuk bahan baku industri pakan, makanan, dan minuman meningkat 10-15%/tahun. Dengan demikian, produksi jagung mempengaruhi kinerja industri peternakan yang merupakan sumber utama protein masyarakat. Disamping untuk pakan ternak, jagung juga diperlukan untuk industri makanan ternak yang pertumbuhannya juga makin meningkat. Kecenderungan konsumsi jagung di Indonesia yang makin meningkat lebih tinggi dari peningkatan produksi, menyebabkan makin besarnya jumlah impor dan makin kecilnya ekspor. Sejalan dengan adanya peningkatan pendapatan masyarakat dan tingkat pengetahuannya, konsumsi protein hewani khususnya daging ayam dan telur serta daging terlihat juga terus meningkat. Hal ini mendorong meningkatnya kebutuhan makanan ternak yang kemudian meningkatkan kebutuhan jagung, karena jagung merupakan 51% dari komponen pakan ternak (Badan Perijinan dan Penanaman Modal).

Sifat-sifat yang dimiliki tanaman jagung tidak jauh berbeda dari jenis rumput-rumputan lainnya. Bentuk fisiknya hampir sama dengan rumput raja baik ketinggian, lebar daun sebatas mirip dengan tanaman rumput. Komposisi kimia

tanaman jagung berbeda dengan rumput dimana protein, Lemak dan energi lebih tinggi, sedangkan serat kasarnya lebih rendah (Kushartono dan Iriani, 2003).

Kandungan nutrisi tanaman jagung perlu diketahui untuk memudahkan dalam kombinasi pemberian pakan maupun suplemen pada ternak. Prioritas suplemen pakan dibuat sesuai kondisi setempat untuk meningkatkan keuntungan dengan mempertimbangkan tipe pakan dan campuran pakan (Kolver, 1999 dalam Faesal 2013). Nutrisi tanaman jagung dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain adalah bagian tanaman yang dipanen, cara penyimpanan meliputi kelembaban dan prosesing (Faesal 2013), selanjutnya disebutkan bahwa kelembaban yang tinggi sangat berpengaruh terhadap nilai nutrisi tanaman jagung. Kelembaban yang tinggi dapat menurunkan nilai nutrisi bagian atau komponen panen pada tanaman jagung (Faesal, 2013).

Jagung merupakan sumber karbohidrat, dan kandungan gizi utama jagung adalah pati (72-73%), kadar gula sederhana jagung (glukosa, fruktosa, dan sukrosa) berkisar antara 1-3%, protein jagung (8-11%), jagung juga mengandung asam lemak, vitamin, dan mineral esensial seperti K, Na, P, Ca, Zn, dan Fe. Kandungan mineral Ca biji jagung berkisar antara 20,1-28,7 mg/100 g (Suarni dan Widowati, 2001).

Nilai nutrisi biji jagung berupa protein kasar, karbohidrat, total energi serta bobot biji dipengaruhi oleh umur panen. Kandungan protein kasar cenderung mengalami penurunan dengan penundaan panen hingga matang, sebaliknya karbohidrat dan bobot biji meningkat seiring dengan penundaan panen hingga saat matang, sementara total energi relatif konstan sejak masak

susu awal hingga saat matang, sementara bobot tertinggi dicapai saat biji matang (Faesal, 2013).

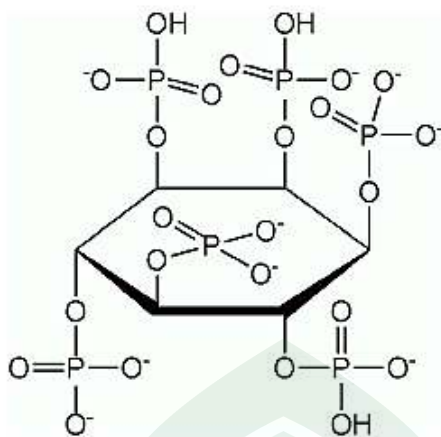
Peranan komoditi jagung sebagai bahan baku pakan ternak sampai saat ini belum tergantikan. Upaya untuk menggantikan jagung dengan biji-bijian lain tampaknya belum berhasil sehingga jagung tetap menjadi bahan baku utama pakan di seluruh dunia (Balai Pertanian Teknologi Pertanian Aceh). Tanaman jagung terutama di dalam bagian intinya sekitar 90% terdapat asam fitat dan fitin (asam fitat dalam bentuk garam) yang merupakan bentuk penyimpanan fosfor. Pada kondisi alami, asam fitat mempunyai sifat sebagai *chelating agent*, yaitu memiliki kemampuan mengikat mineral bervalensi dua salah satunya adalah kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), selain itu asam fitat dapat membentuk ikatan baik dengan protein dan pati sehingga tidak dapat diserap oleh tubuh serta bioavailabilitas menurun. Oleh karena itu, asam fitat dianggap sebagai antinutrisi bahan pangan, sehingga diperlukan suatu usaha untuk menurunkan kadar asam fitat dalam jagung dengan harapan nilai cerna serta bioavailabilitas mineral dapat meningkat (Kurniati dan Yuanita, 2014).

Komponen jagung dalam bahan baku pakan ternak unggas memiliki proporsi yang paling tinggi dibandingkan dengan komponen penyusun lainnya. Dengan demikian fungsi jagung khususnya untuk pakan menjadi sangat penting. Penggunaan jagung yang relatif tinggi ini disebabkan oleh harganya yang relatif murah, mengandung kalori tinggi, mempunyai protein dengan kandungan asam

amino yang lengkap, mudah diproduksi dan digemari oleh ternak (Balai Pertanian Teknologi Pertanian Aceh).

#### **D. Tinjauan Umum Asam Fitat**

Asam fitat ( $C_6H_{18}O_{24}P_6$ ) merupakan senyawa kimia yang terdiri atas *inositol* dan *asam fosfat* (Irianingrum, 2009). Asam fitat (*miioinositol* (1,2,3,4,5,6) *heksakisfosfat*) merupakan turunan gula *heksosa siklik* (*miioinositol*) dengan keenam posisi hidroksilnya (OH) diganti dengan gugus fosfat. Masing-masing gugus fosfat membentuk ikatan *ester* pada cincin *inositol* dan antara gugus P yang satu dengan lainnya tidak terdapat ikatan internal. Senyawa ini mempunyai efek pengkelat karena dapat berikatan dengan kation logam membentuk garam (fitat) (Bohn *et al.* 2008 dalam Amelia, 2010). Selain itu pada pH asam gugus P dari asam fitat dapat berikatan dengan gugus amino dari asam amino sedangkan pada pH netral gugus karboksil dari asam amino akan berikatan dengan asam fitat melalui kation divalen. Pengikatan senyawa ini pada polisakarida juga dapat terjadi baik secara langsung maupun melalui perantara protein (Kornegay, 1996 dalam Amelia, 2010 ).



Gambar 2.2. Struktur Asam Fitat

Fitat memiliki struktur kimia yang sangat stabil. Dalam bentuk fosfat organik memiliki kandungan fosfat yang tinggi. Dalam kondisi fisiologi normal asam fitat membentuk *chelate* dengan mineral– mineral esensial seperti kalsium, magnesium, besi dan seng. Asam fitat seringkali berikatan dengan asam-asam amino atau menghambat enzim – enzim pencernaan (Pallauf dan Rimback, 1996 dalam Iriani, 2009).

Asam fitat merupakan komponen esensial pada semua biji sebagai bentuk penyimpanan fosfor yang utama pada sereal, polong-polongan, dan *oil seed*. (Amelia, 2010). Selama proses perkecambahan, unsur P dari asam fitat digunakan sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangan kecambah (Irwan, 2013). Senyawa ini mulai disintesis sesaat setelah pembungaan dan diakumulasi selama perkembangan biji sampai proses pematangannya dan *desikasi* (Bohn *et al.* 2008 dalam Amelia, 2010). Hidrolisis asam fitat dalam biji oleh aktivitas ftase akan melepaskan inositol dan fosfat bebas. Tidak adanya aktivitas ftase dalam saluran



pencernaan ternak non-ruminansia menyebabkan mineral dan unsur nutrisi lain yang terikat pada asam fitat tidak dapat diserap (Bergam *et al.*, 2007 dalam Irwan, 2013).

Kandungan fitat pada bahan makanan sangat beragam. Lokasi penyimpanan fitat pada biji juga bervariasi, contohnya pada biji yang berukuran kecil fitat terutama terletak pada kulit ari (lapisan *aleurone*, *prikarp*), pada jagung ditemukan pada embrio, sedangkan pada kedelai didistribusikan ke seluruh bagian biji (Kornegay 1996 dalam Amelia, 2010).

Tabel 2.1. Kandungan fitat pada beberapa jenis biji Sereal (Kornegay, 2010)

Jenis Fitat	P Fitat (g/kg)	% fitat P terhadap P total
Gandum	1,9-2,9	61-78
Jagung	1,6-2,6	61-85
Shorgum	1,9-2,9	61-76
<i>Barley</i>	1,9-2,4	55-62
<i>Oats</i>	1,6-3,5	48-78
<i>Lupins</i>	2,9-3,0	54-55
<i>Peas</i>	1,3-2,1	36-53
<i>Chick Peas</i>	2,0-2,3	49-53
Kedelai	2,8-4,0	46-61
Kanola	4,6-7,8	36-70
Bunga Matahari	3,2-5,1	35-47

Asam fitat dalam biji-bijian pada umumnya terdapat pada sel-sel kotiledon dan apabila fitase bertemu dengan fitat maka fitase akan segera menyerang fitat dan aktivitas fitase akan meningkat dengan tajam sejalan dengan peningkatan suhu dan tekanan udara, setelah itu grup ester fosfat pada fitat akan terhidrolisis. Hal ini menyebabkan *ester fosfat* yang lemah pada *mio-inositol* tidak cukup kuat untuk mengikat kation sehingga kation terdifusi keluar (Haryadi, 2007).

Asam fitat merupakan senyawa yang selalu terdapat pada bahan pakan yang berasal dari tanaman dan merupakan senyawa yang tidak dapat didigesti oleh ternak monogastrik (Irwan, 2013). Asam fitat mengikat sekitar 80% P biji-bijian, tidak dapat dicerna dalam saluran pencernaan unggas dan menurunkan nilai nutrisi bahan pakan yang berasal dari tanaman pertanian (Irwan, 2013). Senyawa ini mampu mengikat ion mineral seperti:  $Mg^{++}$ ,  $Fe^{++}$ ,  $Zn^{++}$ ,  $Mn^{++}$ ,  $Ca^{++}$ , fosfat dan protein yang berguna bagi pertumbuhan ternak. Ternak non-ruminansi tidak mempunyai fitase pada saluran pencernaannya, sehingga kandungan senyawa fitat tidak bisa dicerna. Hal ini disebabkan karena sifat *chelating*, sehingga senyawa fitat terbuang bersama kotoran dan mencemari lingkungan (Shin *et al.*, 2001 dalam Irwan, 2013).

Kemampuan asam fitat mengkelat kation logam/mineral dan juga mengikat protein dan polisakarida menyebabkan terbentuknya kompleks tidak larut. Hal ini menyebabkan tidak tersedianya mineral-mineral sebagai nutrisi begitu juga protein dan polisakarida. Dengan kata lain bioavailabilitasnya menurun. Oleh sebab itu, selama bertahun-tahun asam fitat dikenal sebagai faktor antinutrisi pada manusia karena manusia tidak dapat mencerna senyawa tersebut. Rendahnya bioavailabilitas mineral yang terikat pada asam fitat dapat menimbulkan defisiensi pada manusia dimana gandum, beras dan jagung (yang mengandung asam fitat cukup tinggi) merupakan sumber nutrisi utama (Bohn *et al.*, 2008 dalam Amelia, 2010).

Sifat antinutrisi asam fitat didasarkan pada kemampuannya untuk bergabung dengan mineral bervalensi dua. Hal ini membuat ion mineral secara metabolit tidak

tersedia terutama untuk ternak dan mengakibatkan terjadinya kehilangan Cu pada ternak juga manusia (Wils, 1972 dalam Indarwati, 2000).

Selain itu unsur P dalam bentuk asam fitat tidak tersedia sebagai nutrisi hewan-hewan monogastrik yang juga tidak mempunyai kemampuan untuk menhidrolisis senyawa ini. Akibatnya sejumlah P anorganik ditambahkan pada pakan hewan-hewan ini untuk memenuhi kebutuhan gizinya dalam mencapai pertumbuhan optimal. Sementara itu, P yang terdapat pada asam fitat akan dikeluarkan ke lingkungan. Hal ini dapat menyebabkan akumulasi P pada tanah dan air sehingga selanjutnya terjadi *eutrofikasi* pada daerah perairan, yaitu kondisi yang kemudian menyebabkan pertumbuhan *cyanobacteria* yang berlebihan, *hipoksia*, dan kematian organisme akuatik serta produksi *nitrous oksida* yang menyebabkan efek rumah kaca (Amelia, 2010).

Asam fitat yang dikenal sebagai faktor anti nutrisi dapat terhidrolisis oleh fitase sehingga dapat meningkatkan ketersediaan berbagai nutrisi. Hal ini mengarahkan pada pengurangan kinerja asam fitat ketika terdapat penambahan dikalsium fosfat pada pakan ternak, sehingga banyak fosfor yang dikeluarkan oleh hewan ternak yang menuju aliran air, yang dapat menciptakan masalah lingkungan (Maenz dan Classen, 1998).

Dilihat sudut pandang tanaman, fitat penting karena senyawa fitat berperan dalam fungsi fisiologis, selama dormansi dan perkecambahan pada biji-bijian, melindungi kerusakan oksidatif pada biji-bijian selama proses penyimpanan, menurunkan bioavailabilitas beberapa mineral, berperan sebagai antioksidan, serta

dapat menurunkan nilai gizi protein karena apabila fitat berikatan dengan protein akan membentuk senyawa kompleks yang mengakibatkan protein menjadi tidak larut (Iriani, 2009). Namun, jika dilihat dari sudut pandang hewan, fitat merupakan komponen anti nutrisi (Thompson, 1993 dalam Sari, 2012).

Menurut Cosgrove dan Irving (1980) yang menyatakan peranan fitat pada biji-bijian sebagai berikut: 1) Sebagai sumber Fosfor, 2) Untuk penyimpanan energi, 3) Sebagai kompetitor *adenosine trifosfat* selama biosintesis *phytin* ketika metabolisme biji terhambat dan terjadi dormansi, 4) Sebagai pengerah kation *divalent* yang diperlukan untuk mengontrol proses seluler dan dilepaskan selama perkecambahan pada tanaman penghasil fitase, 5) Sebagai regulator ketersediaan *fosfat* anorganik pada biji.

Asam fitat juga memiliki manfaat bagi kesehatan. Asam fitat memiliki fungsi penting sebagai antioksidan, sehingga dapat menghambat terjadinya radikal bebas dan kanker. 20% Fosfor dari bentuk asam fitat telah digunakan sebagai antioksidan dan dapat menjadi agen protektif dalam makanan manusia (Lima-Filho *et al.*, 2004 dalam Sari, 2012).

#### ***E. Tinjauan Umum Enzim Fitase***

Enzim secara umum merupakan protein yang berfungsi sebagai biokatalis dalam sel hidup. Kelebihan enzim dibandingkan katalis biasa adalah dapat meningkatkan produk beribu kali lebih tinggi serta bekerja pada pH yang relatif netral atau suhu yang relatif rendah dan bersifat spesifik dan selektif terhadap substrat

tertentu. Enzim telah banyak digunakan dalam bidang industri pangan, farmasi dan industri kimia lainnya (Yuwono, 2005).

Pemanfaatan enzim dari berbagai bidang industri disebabkan karena enzim merupakan bahan alami yang tidak beracun, dapat mempercepat reaksi tanpa menyebabkan terbentuknya hasil reaksi yang tidak diinginkan. Kecepatan reaksi dapat diatur dengan mengatur pH, suhu dan jumlah enzim yang digunakan. Enzim aktif pada konsentrasi rendah dan dapat dinaktifkan jika reaksi yang dimaksud sudah tercapai. Selain itu, enzim juga merupakan senyawa alamiah yang bersifat *biodegradable* dan ramah lingkungan (Indarwati, 2000).

Fitase (*myo-inositol heksakisfosfat fosfohidrolase*) merupakan enzim *fosfatase* yang bekerja pada ikatan *ester* (*phosphoric monoester hydrolase*) yang memotong gugus fosfat dari asam fitat. lintasan hidrolisis asam fitat dimulai dengan terbentuknya *mioinositol pentafosfat*. Kemudian produk hidrolisis pertama ini akan berikatan kembali dengan enzim sehingga terjadi reaksi yang menghasilkan *mioinositol tetrafosfat* dan seterusnya sampai akhirnya menghasilkan *mioinositol monofosfat* (Scoglund, *et al.*, 1997).

Fitase (*myo-inositol heksakisfosfat fosfohidrolase*) adalah enzim yang dapat menghidrolisis ikatan fosfoester pada asam fitat, menghasilkan fosfat anorganik dan ester fosfat (Sari, 2013). Fitase merupakan kelompok enzim *Phosphatase* yang mampu menghidrolisis asam fitat menjadi *monophosphate* anorganik, *myo-inositol phosphate* rendah (*lower myo-inositol phosphate*), dan *myo-inositol* bebas. Enzim ini dapat dihasilkan oleh mikroorganisme (bakteri, jamur, *yeast*), jaringan hewan dan

tanaman (Kerovuo, 1998 dalam Irwan, 2013). Fitase dapat juga dihasilkan dari proses *cloning* dan dicirikan berasal dari fungi *Aspergillus ficum* (Ullah, 1998).

Berdasarkan tempat awal pemotongan gugus fosfat fitase terdapat tiga kelompok fitase yaitu 3 fitase yang memotong fosfat ke-3 dari asam fitat, 6 fitase/4 fitase yang memotong fosfat di sebelah fosfat ke-5 dari asam fitat dan 5 fitase yang memotong fosfat ke-5 dari asam fitat. Berdasarkan pH optimum aktivitasnya ada 3 kelompok fitase yaitu yang bekerja pada pH asam, netral, dan alkalin (Bohn et al. 2008). Kemudian berdasarkan strukturnya enzim fitase terdapat pada empat kelas enzim yaitu *Histidin Acid Phosphatase* (HAP),  $\beta$  *Propeller Phytase* (BPP), *Purple Acid Phosphatase* (PAP), dan *cysteine phytase* (Cphy) (Amelia, 2010).

Berdasarkan analisis sekuen dan biokimia fitase, maka fitase diklasifikasikan dikelompokkan menjadi dua kelas yaitu fitase *alkalin* dan fitase *histidin*, yang kemudian dikelompokkan lagi menjadi empat kelompok yakni PhyA, PhyB, PhyC dan PhyD. Kelompok fitase alkalin atau PhyD merupakan kelompok fitase yang dihasilkan oleh bakteri dari genus *Bacillus* yang memiliki pH optimum 7-8. Sedangkan kelompok fitase histidin yang dapat menghasilkan fitase yang berasal dari bakteri *Eschericia coli* dari kelompok PhyC yang memiliki pH optimum 5,5-6 (Oh, et al., 2004).

Tabel. 2.2. Pengelompokan Fitase berdasarkan bentuknya (Lei, *et al.*, 2007)

Family Enzim	Struktur Unik	Mekanisme katalitik/adaptasi untuk menghidrolisis fitat	Contoh Penghasil Enzim Fitase
<i>Histidine Acid Phosphatase</i> (HAP)	Motif konsensus N terminal RHGXRXP, Cterminal HD	H pada N-terminal membentuk <i>intermediet fosfatidin</i> , C terminal bertindak sebagai donor proton/Residu substrat <i>specificity site</i> bermuatan positif	<i>A. niger</i> , <i>P. Lycii</i> , <i>E. coli</i> , <i>Zea mays</i> L
<i>Beta Propeller Phytase</i> (BPP)	Molekul berbentuk 6 blade propeller	Mekanisme terdiri dari situs <i>afinitas</i> dan situs pemotongan. Situs <i>afinitas</i> mengikat gugus P sementara situs lainnya menyerang penghubung gugus P/sistem 2 situs menggunakan IP6, IP5, IP4 sebagai substrat	<i>Bacillus</i> sp. <i>X.oryzae</i>
<i>Cysteine Phosphatase</i> (Cphy)	Struktur D loop mengandung motif konsensus HCXXGXXR(T/S)	Mekanisme protein <i>tirosin</i> fosfat/paket situs aktif yang lebih dalam mengakomodasi fitat	<i>Selenomonas ruminantium</i>
<i>Purple Acid Phosphatase</i> (PAP)	Motif konsensus: DXG/GDXXY/GNH (E,D) /VXXH/GHXX	Metaloenzim, secara filogenetik dekat dengan PAP tanaman/tidak diketahui	<i>Glycine max</i> , <i>M. truncatula</i>

Berat molekuler fitase bakteri pada umumnya lebih kecil daripada berat molekuler fungi. Berat molekuler bakteri berkisar antara 35-50kDa, sedangkan berat molekul fitase fungi berkisar antara 65-70kDa. pH optimum fitase bakteri bervariasi antara 2,2-8, fitase fungi memiliki pH optimum antara 4,5-5,6, sedangkan pH optimum fitase pada tumbuhan berkisar antara 4,5-6. Temperatur optimum enzim fitase juga bervariasi (Kerouvo, *et al.*, 2000).

Jenis tanaman yang dapat menghasilkan fitase merupakan tanaman sereal antara lain jagung, kedelai, padi, *wheat* dan *barley* (Irwan, 2013). Walaupun tumbuhan juga menjadi sumber fitase pada tanaman sereal itu sendiri, namun keberadaan fitase dalam tumbuhan tidak seimbang dengan kandungan fitatnya sehingga aktivitas enzim fitase dapat dihambat oleh kandungan fitat yang tinggi (Widowati, *et al.*, 2001).

Suatu studi lebih lanjut mengatakan bahwa tanaman dan jaringan hewan bukan merupakan sumber penghasil fitase yang potensial karena berbagai keterbatasan pada kedua sumber tersebut yaitu fitase yang dihasilkan tidak stabil (Indarwati, 2000).

Fitase merupakan enzim yang berperan untuk menghidrolisis asam fitat sebagai zat anti nutrisi. Hidrolisis dengan katalisator fitase pada asam fitat menghasilkan ion fosfat dan *myo-inositol* bebas. Sifat anti nutrisi asam fitat ini menyebabkan bahan makanan yang mengandung asam fitat sukar dicerna oleh lambung, sehingga ion fosfat dan *myo-inositol* dalam bahan makanan tersebut tidak dapat digunakan oleh tubuh (Irwan, 2013).



Fitase banyak dimanfaatkan dalam industri pangan dan pakan ternak. Adanya fitase pada bahan pangan manusia akan memudahkan dalam pencernaan asam fitat, sedangkan fitase pada bahan pakan ternak akan meningkatkan kualitas nutrisi pakan ternak dan mengurangi polusi fosfat (Sari, *et al.*, 2013).

#### ***F. Tinjauan Umum Bakteri Penghasil Enzim Fitase***

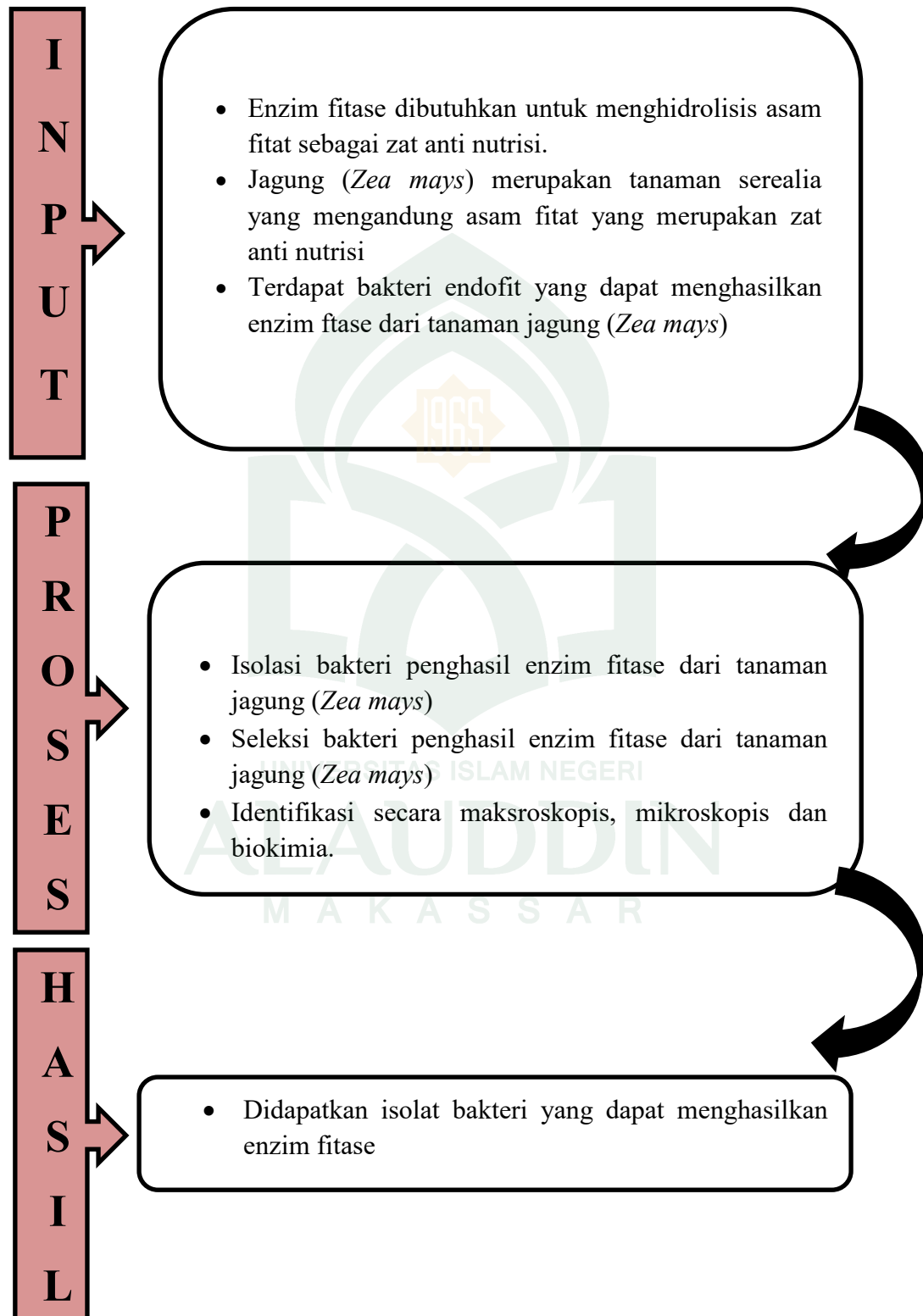
Selain terdapat pada tumbuhan, fitat juga mencapai saluran pencernaan akibat dikonsumsi oleh hewan dan manusia, kemudian tersebar ke tanah dan daerah perairan melalui feses maupun jatuhnya bagian tumbuhan yang mengandung fitat itu sendiri. Sementara itu, dunia bakteri menempati habitat yang sangat luas bahkan termasuk daerah ekstrim. Oleh sebab itu, sangat memungkinkan ditemukannya anggota organisme kelompok ini di daerah yang banyak mengandung fitat dan memanfaatkan senyawa tersebut sebagai sumber fosfor satu-satunya. Untuk melepaskan unsur P dari senyawa ini maka bakteribakteri tersebut menghasilkan enzim fitase (Amelia, 2010).

Mikroorganisme juga dapat menghasilkan fitase antara lain bakteri sebagai salah satu penghasil enzim yang potensial menjadi faktor penting dalam produksi enzim. Oleh karena itu diperlukan usaha penggalian galur galur bakteri penghasil fitase (Santoso dan Sajidan, 2013).

Fitase yang berasal dari mikroorganisme semakin dapat diterima untuk diaplikasikan dalam pakan dan sangat efektif dalam meningkatkan ketersediaan fosfor bagi hewan serta mengurangi polusi yang diakibatkan oleh pelepasan fitat ke lingkungan (Kusharyoto, 2010). Fitase dapat diisolasi dan dikarakterisasi dari

tanaman serealia diantaranya adalah gandum, kedelai, jagung, rerumputan, bunga lili, padi-padian, kacang-kacangan dan wortel. Aktivitas spesifikasi fitase dari tanaman ternyata jauh lebih kecil dibanding fitase dari mikroorganisme (Sajidan, 2004).

Dari sejumlah penelitian yang telah dilakukan akhir-akhir ini diketahui bahwa bakteri-bakteri penghasil fitase berasal dari hampir semua filum dari domain bakteri dan terutama merupakan bakteri gram negatif, walaupun sebagian yang ditemukan tergolong pada bakteri gram positif. Dan bila ditelusuri secara taksonomi bakteri-bakteri gram negatif penghasil fitase terutama termasuk ke dalam filum *Proteobacteria*, dan sebagian besar termasuk kelas *Gammaproteobacteria*. Dibandingkan kelompok taksonomi lainnya, famili *Enterobacteriaceae* paling banyak dipelajari dalam kaitannya menghasilkan enzim fitase. Contoh bakteri penghasil fitase pada kelompok *Enterobacteriaceae* ini adalah *Escherichia coli*, *Citrobacter amalonaticus*, *Yersinia intermedia*, *Pectobacterium wasanabe*, *Klebsiella* sp. (Sajidan, *et al.* 2004), dan *Obesumbacterium proteus*. Sementara itu, bakteri penghasil fitase gram positif yang paling banyak dipelajari adalah famili *Bacillaceae* yang salah satu anggotanya adalah *Bacillus subtilis* (Kerovuo, *et al.* 1998).

**G. Kerangka Berfikir**

### **BAB III**

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### ***A. Jenis dan Lokasi Penelitian***

Penelitian ini merupakan penelitian kualitatif dengan pendekatan eksploratif. Penelitian ini direncanakan akan dilaksanakan pada bulan Oktober 2016-Desember 2016 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar dan Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains FMIPA Universitas Hasanuddin.

### ***B. Pendekatan Penelitian***

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksploratif yaitu untuk mendapatkan spesies bakteri endofit penghasil enzim fitase dari jagung (*Zea mays*).

### ***C. Variabel Penelitian***

Penelitian ini menggunakan variabel tunggal yaitu bakteri endofit penghasil enzim fitase dari jagung (*Zea mays*).

### ***D. Definisi Operasional Variabel***

Adapun definisi operasional variabel pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Bakteri endofit adalah bakteri yang hidup di dalam jaringan tanaman jagung (*Zea mays*) yang dapat menghasilkan enzim fitase.

2. Bakteri penghasil enzim fitase merupakan mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim fitase yang diisolasi dari akar, batang, daun dan biji jagung (*Zea mays*) yang digunakan untuk menghidrolisis fitat.
3. Jagung (*Zea mays*) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai pakan ternak dan dijadikan sumber isolat bakteri endofit penghasil enzim fitase.
4. Isolasi bakteri merupakan pemisahan bakteri penghasil fitase dengan mikroba lainnya, isolasi dilakukan dari sampel jagung (*Zea mays*) yang meliputi akar, batang, daun dan biji dengan pengenceran  $10^{-3}$  dengan metode cawan sebar (*spread plate*) pada media selektif.
5. Skrining bakteri adalah seleksi bakteri penghasil enzim fitase dari tanaman jagung yang didapatkan pada media selektif.

#### **E. Instrumen Penelitian**

##### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Inkubator, Inkubator shaker, LAF (*Lamina Air Flow*), Oven, mikroskop, neraca analitik, autoklaf, vortex, *hot plate and stirrer*, *mortal and pastle*, mikropipet dan tip, labu erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung, ose bulat, kaca preparat, *deck glass*, lampu spiritus, botol semprot.

##### **2. Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel yang berasal dari tanaman jagung (*Zea mays*) yang terdiri atas akar, batang, daun dan biji

yang telah berumur 80-110 hari. Media LB (*Luria Bertani*) yang terdiri atas pepton, yeast ekstrak, bacto agar, NaCl, akuades. Media PSM (*Phytase Spesifik Medium*) yang terdiri atas Ca-Phytate, glukosa,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , NaCl, KCl,  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MnSO}_4$ . Spirtus, alkohol 70%, alkohol 96%, *Natrium hipoklorit*, reagen pewarnaan gram bakteri *cristal violet*, iodin, aseton alkohol, safranin, *methylen blue*, minyak imersi, serta bahan-bahan uji biokimia, alumunium foil, *wrapping plastic*, tissue roll, sarung tangan, masker, karet gelang, korek api dan label.

#### **F. Prosedur Kerja**

Adapun prosedur kerja pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

##### **1. Pengambilan dan Preparasi Sampel**

Sampel yang digunakan yaitu tanaman jagung (*Zea mays*) yang terdiri atas akar, batang, daun dan biji jagung (*Zea mays*) yang berumur 80 sampai 110 hari. Sampel didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Serealia di Kabupaten Maros Sulawesi Selatan. Sampel jagung (*Zea mays*) kemudian dipisahkan dan selanjutnya dibilas menggunakan aquades dan etanol.

##### **2. Preparasi media**

Media yang digunakan adalah media LB (*Luria Bertani*) cair, media LB padat dan media selektif fitase yaitu media LB (*Luria Bertani*) ditambahkan Na-fitat. Media LB (*Luria Bertani*) cair dan padat merupakan media umum yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri endofit dari tanaman jagung (*Zea mays*) dengan komposisi untuk media LB padat (10 g pepton, 5 g yeast ekstrak, 20 g bacto agar

dan 10 g NaCl) komposisi untuk media LB cair sama dengan LB padat tetapi tidak ditambahkan bacto agar. Sedangkan komposisi media selektif Media PSM (*Phytase Spesifik Medium*) yang terdiri atas 0,5% Ca-Phytate, 1,5% glukosa, 0,5%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,01 %NaCl, 0,05% KCl, 0,001%  $\text{FeSO}_4$ , 0,01%  $\text{MgSO}_4$ , 0,01%  $\text{CaCl}_2$ , 0,001%  $\text{MnSO}_4$ . Langkah kerja pembuatan media yaitu bahan-bahan tersebut dimasukkan kedalam gelas kimia kemudian ditambahkan 1000 ml aquades. Selanjutnya, *distirrer* menggunakan *hot plate magnetic stirrer* sampai semua bahan larut, selanjutnya pH media diatur menjadi pH 7. Kemudian disterilkan dengan autoklaf manual pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit pada tekanan 2 atm.

### 3. Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)

Akar, batang, daun dan biji jagung (*Zea mays*) yang telah dibersihkan dengan air mengalir, kemudian disterilisasikan dengan cara biji direndam menggunakan *natrium hipoklorit* selama 2 menit, kemudian etanol 70% selama 2 menit dan etanol 96% selama 2 menit. Selanjutnya akar, batang, daun dan biji jagung (*Zea mays*) dibilas dengan aquades steril selama 2 kali, sebagai kontrol sterilisasi hasil bilasan terakhir dari sampel, ditumbuhkan pada media, apabila tidak ada koloni yang tumbuh, maka koloni yang tumbuh pada sampel yang telah diisolasi merupakan bakteri endofit. Selanjutnya sampel yang telah dibilas dengan aquades digerus menggunakan *mortal and pastle*, hasil gerusan ditimbang sebanyak 10 gr, setelah itu sampel dimasukkan ke dalam media LB cair, selanjutnya sampel diinkubator shaker selama 24 jam. Sampel yang telah dishaker kemudian diencerkan sampai pengenceran  $10^{-8}$ , setelah mengencerkan, pengenceran  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  dan  $10^{-8}$  diinokulasikan pada media

LB (*Luria Berthani*) padat, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh pada media LB padat selanjutnya diinokulasikan pada media selektif.

#### 4. Seleksi Bakteri Penghasil Fitase

Koloni yang diperoleh dari media LB (*Luria Bertani*) padat yang telah dimurnikan kemudian diinokulasikan pada media selektif PSM (*Phytase Spesifik Medium*), bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri yang dapat tumbuh dan membentuk zona bening pada media tersebut memiliki kemampuan untuk menghidrolisis fitat. Hasil pengujian secara kualitatif ditandai dengan adanya daerah halo (Zona bening) disekitar koloni. Seleksi dilakukan dengan cara mengukur indeks fitatik yang dimiliki masing-masing isolat. Indeks fitatik merupakan nilai perbandingan antara diameter zona bening dan diameter koloni bakteri. Isolat dengan indeks fitatik tertinggi, kemudian dikarakterisasi dan uji biokimia.

#### 5. Karakterisasi bakteri

Isolat dengan indeks fitatik tertinggi, selanjutnya dikarakterisasi dengan pengamatan makroskopik dan mikroskopik serta uji biokimia. Pengamatan makroskopik meliputi pengamatan ukuran, pigmentasi, bentuk, elevasi, permukaan dan margin. Pengamatan mikroskopik meliputi pengamatan pewarnaan gram. Uji biokimia meliputi reaksi fermentasi karbohidrat, uji IMVIC (*Indol*, *Methyl Red*, *Voges-Proskauer*, *Simmon's sitrat*) dan uji katalase, uji pereduksi H<sub>2</sub>S, uji motilitas, uji kebutuhan oksigen, uji oksidase dan uji ornithin dekarboksilase. Uji Biokimia dilakukan dengan cara:



- a. Uji fermentasi karbohidrat, karbohidrat yang digunakan adalah glukosa, laktosa dan manitol. Medium fermentasi antara lain 1% glukosa, 0,5 % laktosa dan 0,5% manitol. Selanjutnya medium fermentasi tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi tabung durham sebanyak 3 ml. Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam medium fermentasi tersebut secara aseptis dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C.
- b. Uji TSIA (*Tryple Sugar Iron Agar*), menggunakan media TSIA (*Tryple Sugar Iron Agar*), 1 ose isolate diinokulasikan pada tabung reaksi yang telah berisi media, kemudian diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C.
- c. Uji pereduksi H<sub>2</sub>S dilakukan dengan cara yaitu, isolat bakteri diinokulasikan secara aseptis ke medium TSIA (*Tryple Sugar Iron Agar*) diinkubasi selama 24-48 jam. Uji positif pereduksi H<sub>2</sub>S ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada medium.
- d. Uji motilitas ini dapat dilihat juga pada media SIM (*Sulfied indol motility*) seperti yang telah diuraikan pada point sebelumnya, uji positif ditandai dengan terbentuknya sebaran pada daerah bekas inokulasi (tusukan) yang artinya bakteri melakukan aktivitas bergerak (motil).
- e. Uji pembentukan indol, satu ose isolat bakteri diinokulasikan secara aseptis ke dalam 3 ml medium SIM (*Sulfied indol motility*) dalam tabung reaksi. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C dan setelah itu ditambahkan dengan *Kovacs reagen*. Hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah

- f. Uji MR (*Methyl-Red*) yang komposisi bahan terdiri atas glukosa, peptone dan aquades. 1 ose isolate diinokulasikan pada media MR (*Methyl-Red*) diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dan setelah itu ditambahkan dengan reagen *methyl red*. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah.
- g. Uji VP (*Voges Paskeur*) komposisi media sama dengan media MR (*Methyl-Red*). 1 ose isolate diinokulasikan pada media VP (*Voges Paskeur*) diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dan setelah itu ditambahkan dengan reagen KOH dan *anaftol*. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah.
- h. Uji penggunaan sitrat, dilakukan dengan cara satu ose biakan bakteri diinokulasikan pada 5 ml medium padat miring *Simmons Citrat* dalam tabung reaksi dan indikator Bromthymol blue secara aseptis lalu diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24. Hasil positif ditandai dengan adanya medium pertumbuhan berubah warna dari hijau menjadi biru. Sedangkan hasil negatif sebaliknya.
- i. Uji katalase, dilakukan dengan cara, sebanyak satu tetes  $\text{H}_2\text{O}_2$  3% diteteskan ke dalam tabung reaksi yang berisi isolate. Hasil positif ditandai dengan timbulnya gas atau gelembung udara di sekitar goresan bakteri tersebut.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### ***A. Hasil Penelitian***

##### **1. Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Fitase Dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)**

Isolasi bakteri endofit pada masing-masing organ tanaman jagung yang terdiri atas akar, batang, daun dan biji, yang dapat menghasilkan enzim fitase terlebih dahulu dipreparasi, selanjutnya sampel diinkubasi dengan menggunakan *inkubator shaker* selama 24 jam menggunakan media LB (*Luria Bertani*) cair yang bertujuan untuk mempercepat pertumbuhan bakteri. Selanjutnya sampel diinokulasikan pada media LB (*Luria Bertani*) sampel diencerkan sampai pengenceran  $10^{-8}$  dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Setelah hasil dari metode sebar didapatkan selanjutnya isolat digores menggunakan metode kuadran dan diinkubasi selama 24 jam  $37^{\circ}\text{C}$ , metode kuadran dilakukan agar didapatkan isolat yang murni.

Setelah koloni murni diperoleh selanjutnya isolat ditotolkan pada media selektif PSM (*Phytase Selektif Media*), kemudian diinkubasi selama 3x24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Media selektif PSM (*Phytase Selektif Media*) digunakan untuk menyeleksi bakteri yang dapat menghasilkan enzim fitase, karena media ini mengandung fitat yang merupakan substrat dari bakteri penghasil enzim fitase. Dari seleksi pada media PSM (*Phytase Selektif Media*) didapatkan hasil bahwa dari ke 20

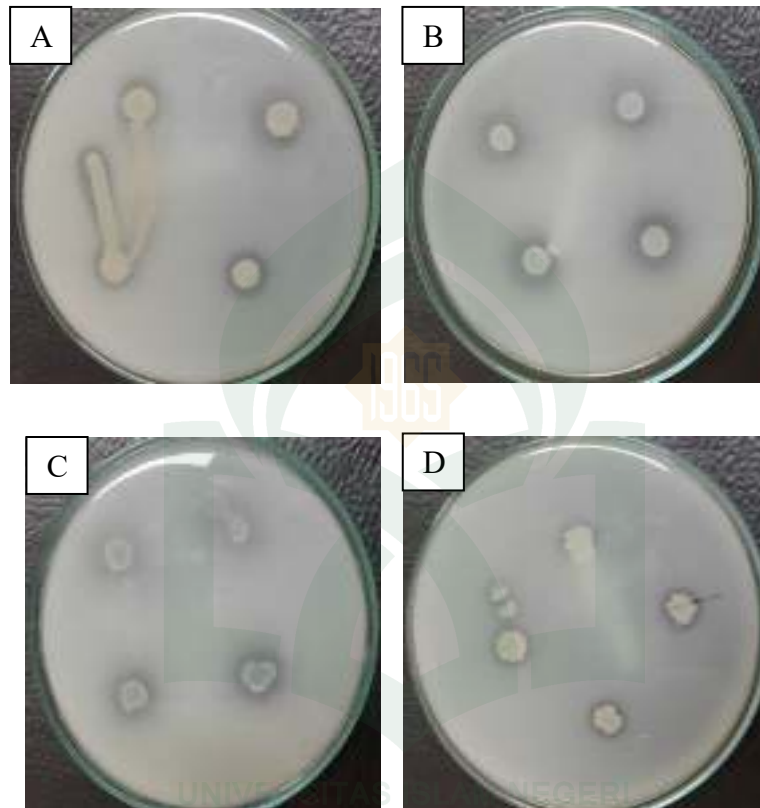
koloni yang ditotolkan, hanya 10 koloni yang mampu menghasilkan zona bening dengan baik seperti yang terlihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 4.1. Hasil Isolasi dan Seleksi Bakteri Endofit Penghasil Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)

No	Kode Isolat	Ukuran Horizontal (cm)	Ukuran Vertikal (cm)	Indeks Fitatik (IF)
1	AKAR $10^{-6}$ HF.1	0,97	1,03	1
2	AKAR $10^{-6}$ HF.5	1,03	1,15	1,09
3	AKAR $10^{-7}$ HF.7	1,37	1,36	1,365
4	BATANG $10^{-6}$ HF.2	0,86	0,94	0,9
5	BATANG $10^{-7}$ HF.2	1,08	1,11	1,095
6	DAUN $10^{-6}$ HF.2	1,12	1,31	1,21
7	DAUN $10^{-6}$ HF.3	0,98	1,74	1,36
8	BIJI $10^{-6}$ HF.1	0,93	0,98	0,95
9	BIJI $10^{-6}$ HF.3	0,95	0,92	0,93
10	BIJI $10^{-8}$ HF.1	0,99	0,97	0,98

Berdasarkan data yang didapatkan diketahui bahwa isolat yang memiliki indeks fitatik tertinggi dari masing-masing organ tanaman jagung (*Zea mays*) yakni dari akar adalah  $10^{-7}$  HF.7 dengan indeks fitatik 1,365 cm, dari batang yakni  $10^{-7}$  HF.2 dengan indeks fitatik 1,095 cm, dari daun yakni  $10^{-6}$  HF.3 dengan indeks fitatik 1,36 cm dan dari biji adalah  $10^{-8}$  HF.1 dengan indeks fitatik tertinggi 0,98 cm.

Pemilihan isolat yang akan digunakan berdasarkan pada hasil indeks fitatik tertinggi dari setiap organ tanaman jagung (*Zea mays*), maka dipilih 4 isolat yang tertera pada gambar dibawah ini:



Gambar 4.1. Aktivitas Fitatik Isolat yang Membentuk Zona Bening di Sekitar Koloni Bakteri (A) Akar  $10^{-7}$  HF.7, (B) Batang  $10^{-7}$  HF.2, (C) Daun  $10^{-6}$  HF.3, (D) Biji  $10^{-8}$  HF.1.

## 2. Pengamatan Makroskopik Koloni dan Mikroskopik Sel Bakteri Penghasil Enzim Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)

Pengamatan makroskopik dan mikroskopik pada isolat yang terpilih dilakukan untuk mengetahui perbedaan dari isolat-isolat tersebut. Berdasarkan pengamatan makroskopik yang diamati secara langsung menggunakan *colony counter* yang

meliputi pengamatan ukuran, bentuk, permukaan, pigmentasi, elevasi dan margin, pengamatan makroskopik dilakukan ke 10 isolat yang dapat menghasilkan zona bening. Hasil pengamatan makroskopik koloni dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 4.2. Pengamatan Makroskopik Koloni Isolat Bakteri Endofit Penghasil Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)

No	Kode Isolat	Makroskopik Koloni					
		Ukuran	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	Permukaan
1	AKAR $10^{-6}$ HF.1	Sedang	<i>Circular</i>	Putih bening	<i>Flat</i>	<i>Entire</i>	Halus mengkilat
2	AKAR $10^{-6}$ HF.5	Sedang	<i>Irregular</i>	Putih bening	<i>Raised</i>	<i>Curled</i>	Halus mengkilat
3	AKAR $10^{-7}$ HF.7	Sedang	<i>Irregular</i>	Putih kekuningan	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	Kasar
4	BATANG $10^{-6}$ HF.2	Sedang	<i>Filamentous</i>	Putih susu	<i>Raised</i>	<i>Filamentous</i>	Halus mengkilat
5	BATANG $10^{-7}$ HF.2	Sedang	<i>Circular</i>	Putih kekuningan	<i>Raised</i>	<i>Entire</i>	Berkerut
6	DAUN $10^{-6}$ HF.2	Sedang	<i>Rhizoid</i>	Kekuningan	<i>Raised</i>	<i>Rhizoid</i>	Halus mengkilat
7	DAUN $10^{-6}$ HF.3	Sedang	<i>Irregular</i>	Putih kekuningan	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	Berkerut
8	BIJI $10^{-6}$ HF.1	Sedang	<i>Irregular</i>	Kekuningan	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	Halus mengkilat
9	BIJI $10^{-6}$ HF.3	Sedang	<i>Irregular</i>	Putih kekuningan	<i>Umbonate</i>	<i>Undulate</i>	Berkerut
10	BIJI $10^{-8}$ HF.1	Sedang	<i>Irregular</i>	Putih kekuningan	<i>Raised</i>	<i>Undulate</i>	Berkerut

Sedangkan berdasarkan pengamatan mikroskopik yang diamati dengan menggunakan mikroskop, hanya dilakukan pengamatan pada empat isolat yang terpilih yang memiliki indeks fitatik (IF) tertinggi dari masing-masing organ. Pengamatan mikroskopik meliputi pewarnaan gram yang merupakan pewarnaan diferensial yang bertujuan untuk mengetahui isolat-isolat tersebut termasuk bakteri gram positif (+) atau bakteri gram negatif (-). Hasil pengamatan mikroskopik koloni dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 4.3. Pengamatan Mikroskopik Empat Koloni Isolat Bakteri Endofit Penghasil Fitase yang Terpilih dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)

No	Kode Isolat	Mikroskopik Sel	
		Bentuk Sel	Sifat Gram
1	AKAR $10^{-7}$ HF.7	<i>Coccus</i>	Gram Negatif (-)
2	BATANG $10^{-7}$ HF.2	<i>Basil</i>	Gram Negatif (-)
3	DAUN $10^{-6}$ HF.3	<i>Coccus</i>	Gram Negatif (-)
4	BIJI $10^{-8}$ HF.1	<i>Basil</i>	Gram Negatif (-)

### 3. Uji Biokimia Bakteri Penghasil Enzim Fitase Dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)

Uji biokimia merupakan uji yang dilakukan pada isolat bakteri yang bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri melalui sifat-sifat fisiologisnya, karena setiap bakteri memiliki sifat fisiologis yang berbeda. Pada pengujian biokimia hanya dilakukan pada empat isolat yang terpilih berdasarkan indeks fitatik (IF) tertinggi, pengamatan uji biokimia meliputi pengamatan uji fermentasi karbohidrat, uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), uji katalase, uji motilitas, uji H<sub>2</sub>S, uji indol, uji MR, uji VP dan uji sitrat. Isolat-isolat yang terpilih yakni Akar 10<sup>-7</sup> HF.7, Batang 10<sup>-7</sup> HF.2, Daun 10<sup>-6</sup> HF.3 dan Biji 10<sup>-8</sup> HF.1. Adapun hasil uji biokimia pada isolat-isolat yang terpilih dapat dilihat pada table dibawah ini:

Tabel 4.4. Hasil Uji Biokimia pada lima Koloni Isolat Bakteri Endofit Penghasil Fitase yang Terpilih dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)

No	Uji Biokomia	Kode Isolat			
		AKAR 10 <sup>-7</sup> HF.7	BATANG 10 <sup>-7</sup> HF.2	DAUN 10 <sup>-6</sup> HF.3	BIJI 10 <sup>-8</sup> HF.1
1	Uji TSIA ( <i>Triple Sugar Iron Agar</i> )	-	+	+	+
2	Uji H <sub>2</sub> S	-	-	-	-
3	Uji Motilitas	-	+	+	+
4	Uji Katalase	+	+	+	+
5	Uji <i>Indol</i>	-	-	-	-
6	Uji <i>Methyl Red</i>	-	+	-	-
7	Uji <i>Voges Paskeur</i>	-	+	+	+
8	Uji <i>Citrat</i>	+	+	+	+



9	Fermentasi Karbohidrat	Laktosa	-	+	+	+
		Manitol	+	+	+	+
		Glukosa	+	+	+	+
Genus			<i>Burkholderia</i> sp.	<i>Pantoea</i> sp.	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>Enterobacter</i> sp.

## B. Pembahasan

### 1. Isolasi dan Seleksi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Fitase Dari

#### Tanaman Jagung (*Zea mays*)

Fitase (*Mio-inositol heksafosfat fosfohidrolase*) adalah suatu *fosmonoesterase* yang mampu menghidrolisis asam fitat (*mio-inositol hekasis fosfat*) menjadi *ortofosfat* anorganik dan *ester-ester fosfor mio-inositol* yang lebih rendah, bahkan pada kondisi-kondisi tertentu menjadi fosfat dan *mio-inositol* bebas (Indarwati, 2000).

Asam fitat merupakan senyawa yang selalu terdapat pada bahan pakan yang berasal dari tanaman dan merupakan senyawa yang tidak dapat didigesti oleh ternak monogastrik (Irwan, 2013). Asam fitat mengikat sekitar 80% P biji-bijian, tidak dapat dicerna dalam saluran pencernaan unggas dan menurunkan nilai nutrisi bahan pakan yang berasal dari tanaman pertanian. Asam fitat terdapat pada tanaman sereal seperti jagung (*Zea mays*) yang digunakan sebagai sampel penelitian yang bertujuan untuk mendapatkan bakteri endofit yang berasal dari tanaman sereal itu sendiri, untuk menghasilkan enzim fitase yang dapat menghidrolisis fitat. Hal ini

dikarenakan jagung merupakan salah satu tanaman sereal yang mengandung kadar fitat yang paling tinggi yaitu 61-85 % fitat yang berdasarkan pada jurnal (Kornegay, 2010), sehingga bakteri endofit penghasil fitase dapat didapatkan dari Sampel tanaman jagung itu sendiri.

Sampel tanaman jagung (*Zea mays*) yang digunakan mencakup seluruh organ tanaman jagung (*Zea mays*) yaitu akar, batang, daun dan biji. Sampel tanaman jagung (*Zea mays*) berasal dari Balai Penelitian Tanaman Sereal (Balit Sereal) Kabupaten Maros, umur tanaman jagung yang digunakan berumur kurang lebih 80-110 hari, berdasarkan pada penelitian (Khairani, 2009) dalam penelitiannya yang mengisolasi bakteri endofit dari tanaman jagung (*Zea mays*), menggunakan sampel jagung yang berumur 80-110. Isolasi bakteri endofit penghasil enzim fitase dari tanaman jagung (*Zea mays*) terlebih dahulu dipisahkan masing-masing organ dari akar, batang, daun dan biji. Selanjutnya organ-organ tanaman jagung yang telah dipisahkan disterilisasi permukaan dengan menggunakan *Natrium hipoklorit* yang berfungsi sebagai desinfektan yang dapat mensterilkan permukaan sampel dari mikroba-mikroba atau kotoran-kotoran yang melekat. Alkohol 96%, alkohol 70% yang berfungsi untuk lebih mensterilkan sampel dan aquades steril sebagai bilasan terakhir. Bilasan terakhir dari sampel, kemudian diinokulasikan pada media LB (*Luria Bertani*) sebagai indikator kesterilan permukaan sampel. Jika terdapat koloni yang tumbuh pada hasil inkubasi berarti permukaan sampel dinyatakan tidak steril dan jika tidak ada koloni yang tumbuh pada hasil inkubasi, permukaan sampel dinyatakan steril dari mikroba-

mikroba, dengan demikian dipastikan bahwa isolat yang tumbuh pada hasil isolasi adalah bakteri endofit.

Sampel yang telah steril kemudian digerus menggunakan *mortal and pastle* yang berbeda pada setiap organ sampel. Selanjutnya sampel *dishaker* menggunakan *inkubator shaker* selama 24 jam pada media LB (*Luria Bertani*) cair, yang bertujuan agar mempercepat pertumbuhan bakteri. Setelah sampel *diinkubatif shaker*, sampel diencerkan sampai pengenceran  $10^{-8}$ . Isolasi dilakukan menggunakan metode cawan sebar (*Spread Plate*), isolasi dengan metode ini memiliki keberhasilan yang tinggi karena bakteri kebanyakan tumbuh pada media padat, sehingga akan mudah diisolasi dengan cara menyebarkan sel-sel pada cawan sedemikian rupa, agar tumbuh koloni-koloni yang terpisah (Fardiaz, 1988).

Hasil dari pemurnian bakteri kemudian ditotolkan pada media PSM (*Phytase Selektif Medium*) yang merupakan media selektif yang digunakan untuk mengisolasi dan menyeleksi bakteri murni yang dapat merombak fitat. Mikroorganisme yang mampu tumbuh pada media PSM (*Phytase Selektif Medium*) dan membentuk zona bening adalah mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim fitase. Adanya zona bening yang terbentuk merupakan indikator yang menunjukkan adanya hidrolisis Ca-Fitat oleh bakteri penghasil fitase (Indarwati, 2000).

Dari 20 isolat yang telah diisolasi pada media PSM (*Phytase Spesifik Medium*), terdapat 10 isolat yang dapat menghasilkan zona bening. Zona bening ke-10 isolat tersebut diukur pada hari ketiga inkubasi dan diukur menggunakan jangka sorong agar hasil pengukuran lebih terperinci. Hasil pengukuran yang

diperoleh dapat dilihat pada tabel 4.1. Besar kecilnya zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh kemampuan bakteri menghidrolisis Ca-Fitat pada media PSM (*Phytase Spesifik Medium*). Zona bening yang terbentuk pada wilayah di sekeliling koloni terjadi karena adanya hidrolisis asam fitat menjadi fosfor oleh fitase yang dihasilkan oleh isolat yang berdifusi ke dalam medium. Menurut Selle *et al.* (2006) bahwa mikroorganisme yang menghasilkan fitase mampu menghidrolisis asam fitat menjadi fosfor, sehingga wilayah di sekeliling koloni terlihat jernih. Fosfor yang dihasilkan dari proses penguraian asam fitat ini larut dalam media sehingga kekeruhan di sekeliling koloni hilang.

Seleksi isolat dilakukan dengan cara mengukur indeks fitatik yang dimiliki masing-masing isolat. Dari hasil pengukuran indeks fitatik ini menunjukkan bahwa empat isolat yang memiliki indeks fitatik (IF) tertinggi dari masing-masing organ tanaman jagung (*Zea mays*) yakni dari organ akar isolat akar  $10^{-7}$  HF.7 1,365 cm organ batang  $10^{-7}$  HF.2 1,095 cm, organ daun  $10^{-6}$  HF.3 1,36 cm dan organ biji  $10^{-8}$  HF.1 0,98 cm. Berdasarkan hasil pengukuran indeks fitatik, isolat yang berasal dari akar yang memiliki indeks fitatik tertinggi dibandingkan dari organ lain hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang mendapatkan bakteri endofit penghasil fitase yang hanya ditemukan pada akar tanaman, hal ini dipengaruhi oleh fisiologi akar tanaman. Akar tanaman berperan dalam menyerap unsur hara dan secara alami mempunyai mekanisme yang khusus dalam hal penyebaran unsur hara (fosfor) yang berikatan dengan asam fitat tersebut untuk pertumbuhan tanaman. Asam fitat akan diserap dan dihidrolisis menjadi fosfor

sebelum memasuki batang dan daun. Kemampuan mikroorganisme endofitik dalam menghasilkan metabolit sekunder (enzim) sesuai dengan fisiologi tanaman inangnya (Radji, 2005).

Dari hasil Indeks Fitatik (IF) isolat yang terpilih untuk selanjutnya ditetapkan sebagai isolat potensial penghasil enzim fitase asal tanaman jagung (*Zea mays*) yang dapat dimanfaatkan untuk pakan ternak. Selanjutnya, isolat-isolat yang memiliki indeks fitatik tertinggi dari masing-masing organ yang terisolasi akan dilanjutkan ke tingkat genus untuk menentukan genus bakteri dengan melakukan karakterisasi biokimia.

## **2. Pengamatan Makroskopik Koloni dan Mikroskopik Sel Bakteri Endofit Penghasil Enzim Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)**

Identifikasi mikroorganisme dilakukan dengan mengamatai ciri-ciri morfologi, meliputi: ukuran, bentuk, warna, elevasi, tepian dan permukaan. Identifikasi mikroorganisme yang didasarkan pada morfologi tidak mampu memberikan informasi filogenik suatu mikroorganisme namun pengamatan morfologi sel tetap diperlukan sebagai tahap awal identifikasi lebih lanjut (Wulandari, 2011).

Hasil yang diperoleh dari pengamatan makroskopik koloni bakteri ke 10 isolat dapat dilihat kembali pada tabel 4.2. Pengamatan makroskopik koloni untuk isolat akar  $10^{-7}$  HF.7, batang  $10^{-7}$  HF.2, daun  $10^{-6}$  HF.3 dan biji  $10^{-8}$  HF.1 yang ditetapkan sebagai isolat potensial penghasil enzim fitase dari tanaman jagung (*Zea mays*) memiliki karakteristik yaitu: untuk isolat akar  $10^{-7}$  HF.7 memiliki ukuran sedang, bentuk *irregular*, warna putih kekuningan, elevasi *raised*, tepian *undulate* dan

permukaan kasar. Isolat batang  $10^{-7}$  HF.2 memiliki ukuran sedang, bentuk *circular*, warna putih kekuningan, elevasi *raised*, tepian *entire* dan permukaan berkerut. Isolat daun  $10^{-6}$  HF.3 memiliki ukuran sedang, bentuk *rhizoid*, warna kekuningan, elevasi *raised*, tepian *rhizoid* dan permukaan halus mengkilat. Isolat biji  $10^{-8}$  HF.1 memiliki ukuran sedang, bentuk *irreguler*, warna putih kekuningan, elevasi *raised*, tepian *undulate* dan berkerut.

Tahap identifikasi selanjutnya adalah pengamatan mikroskopik sel yang juga harus dilakukan dalam pencirian dan pengidentifikasian bakteri yaitu dengan proses pewarnaan gram yang merupakan proses pewarnaan diferensial. Pewarnaan gram adalah salah satu teknik pewarnaan yang paling penting dan luas yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri, bakteri yang terwarnai dengan metode ini dibagi menjadi dua kelompok, yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Pada pewarnaan bakteri, *Methylen blue* akan membentuk senyawa kompleks dengan *lugol* memberi warna ungu. Pada beberapa jenis bakteri, zat warna tersebut dengan mudah dilepaskan dengan pencucian menggunakan larutan alkohol 95%. Sementara pada jenis bakteri yang lain, zat warna tersebut dapat tetap melekat setelah dicuci dengan alkohol 95%. Bakteri yang zat warnanya tidak terlepas setelah pencucian dengan alkohol 95% akan berwarna ungu dan tidak terwarnai oleh pewarna safranin merupakan bakteri gram positif. Bakteri yang tidak terwarnai oleh safranin sehingga berwarna merah, merupakan bakteri gram negatif (Wulandari 2011).

Hasil pengamatan mikroskopik sel bakteri yang meliputi bentuk sel dan pewarnaan gram dapat dilihat pada table 4.3. Bentuk sel bakteri dari organ akar

berbentuk *coccus*, bersifat gram negatif (-), dari organ batang berbentuk *basil* bersifat gram negatif (-), dari organ daun berbentuk *coccus*, bersifat gram negatif (-) dan dari organ biji berbentuk *basil* bersifat gram negatif (-). Dari keempat isolat kesemuanya bersifat gram negatif, hal ini sesuai dengan penelitian-penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa bakteri-bakteri penghasil fitase berasal dari hampir semua filum dari domain bakteri dan terutama merupakan bakteri gram negatif, walaupun sebagian yang ditemukan tergolong pada bakteri gram positif, secara taksonomi bakteri-bakteri penghasil gram negatif penghasil fitase terutama termasuk ke dalam filum *Proteobacteria* dan sebagian besar termasuk kelas *Gammaprobacteria* (Amelia, 2010).

Menurut Lay (1994), gram negatif berwarna merah sebab kompleks tersebut larut pada saat pemberian aseton alkohol dan mengambil warna merah safranin. Perbedaan warna menunjukkan perbedaan struktur dinding sel bakteri. Umumnya bakteri gram negatif memiliki dinding sel dengan kandungan lipida yang tinggi, sehingga lipida larut oleh aseton alkohol. Sedangkan bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel berkomposisi peptidoglikan yang membentuk persenyawaan kompleks kristal *violet-iodium ribonukleat* dan tidak larut dalam *aseton* alkohol. Penyerapan warna yang dilakukan oleh bakteri gram positif akan lebih kuat karena susunan *peptidoglikan* yang lebih tebal dibandingkan bakteri gram negatif.

### 3. Karakterisasi Biokimia Bakteri Endofit Penghasil Enzim Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)

Aktivitas biokimia atau metabolisme adalah berbagai reaksi kimia yang berlangsung dalam tubuh makhluk hidup untuk mempertahankan hidup. Identifikasi dan pengukuran perubahan kimia yang dilakukan mikroorganisme dengan melakukan berbagai pengujian adalah untuk mengetahui mikroorganisme tersebut menyebabkan perubahan kimia pada suatu substansi khusus atau tidak dan juga pengujian yang dilakukan untuk mengidentifikasi sebagian besar senyawa kimia yang terlibat dalam proses metabolisme (Pelezar, 2008 dalam Rezkianti 2011).

Uji biokimia digunakan untuk identifikasi mikroorganisme secara fisiologis berdasarkan reaksi biokimia. Macam atau jenis biokimia dipengaruhi oleh faktor atau sifat mikroorganisme, jenis media dan faktor lingkungan (Harti, 2015). Uji biokimia didasarkan pada beberapa hasil metabolisme yang disebabkan oleh daya kerja enzim. Suatu genus sulit ditentukan hanya berdasarkan sifat morfologi saja. Sehingga perlunya dilakukan karakterisasi biokimia. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian biokimia yang antara lain: Uji TSIA (*Tryple Sugar Iron Agar*), Uji H<sub>2</sub>S, Uji katalase, Uji *Indol*, Uji motilitas, Uji MR (*Methyl Red*), Uji VP (*Voges Paskeur*), Uji Sitrat dan uji fermentasi karbohidrat.

#### a. Uji TSIA (*Tryple Sugar Iron Agar*)

Uji TSIA (*Tryple Sugar Iron Agar*) uji ini menggunakan medium TSIA (*Tryple Sugar Iron Agar*) pada media ini mengandung glukosa, laktosa dan sukrosa. Uji ini digunakan untuk mengetahui mikroorganisme dapat mereduksi H<sub>2</sub>S,



pembentukan gas dan dapat juga mengetahui fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa dapat dapat terlihat ketika warna merah pada permukaan (*Slant*) dan warna kuning pada bagian bawah tabung (*Butt*) menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa tetapi tidak laktosa dan sukrosa, warna kuning pada bagian permukaan dan bawah tabung menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Warna kuning pada permukaan dan warna merah pada bagian bawah tabung menunjukkan fermentasi laktosa dan sukrosa. Sedangkan warna merah pada bagian permukaan dan bawah menunjukkan bahwa glukosa, laktosa dan sukrosa tidak dapat difermentasikan (Fardiaz, 1989 dalam Sari 2014).

Uji  $H_2S$  digunakan untuk mengetahui adanya enzim desulfurase pada bakteri yang dapat menguraikan asam amino sistein menjadi enzim disulfida.  $H_2S$  diproduksi oleh beberapa jenis mikroorganisme melalui pemecahan asam amino yang mengandung unsur belerang (S). Mikroorganisme yang menghasilkan desulfurase sewaktu dibiakkan dalam media yang kaya dengan asam amino yang mengandung sulfur akan membentuk  $H_2S$  (Rezkianti, 2011). Mikroorganisme yang menghasilkan desulfurase akan menghasilkan senyawa  $FeS$  yang berwarna hitam, jika dibiakkan pada media yang kaya dengan asam amino yang mengandung sulfur (Mellisa, *et al* 2016).

Hasil  $H_2S$  yang dilakukan pada seluruh isolat bernilai negatif diisolasi pada media TSIA tidak menghasilkan  $H_2S$ , hal ini menunjukkan ke seluruh isolat bakteri ini tidak memiliki kemampuan dalam mereduksi asam-asam amino yang mengandung sulfur (Mellisa, *et al* 2016).

### b. Uji Katalase

Katalase adalah enzim yang mengkatalis penguraian *hydrogen peroksida* ( $H_2O_2$ ) menjadi air dan gas  $O_2$ . *Hydrogen peroksida* bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktivasi enzim dalam sel. *Hydrogen peroksida* terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikrobia yang tumbuh dalam lingkungan aerob harus menguraikan bahan toksik tersebut (Lay, 1994 dalam Priharta, 2008).

Hasil dari uji katalase keempat isolat menunjukkan hasil positif (+) yang ditandai dengan adanya gelembung yang terbentuk. Adanya gelembung udara disebabkan karena bakteri mampu menghasilkan enzim katalase yang mengkatalis penguraian  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  (Priharta, 2008). Mekanisme enzim katalase memecah  $H_2O_2$  yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya  $H_2O_2$ . Bakteri yang memiliki kemampuan memecah  $H_2O_2$  dengan enzim katalase maka segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik  $H_2O_2$  yang dihasilkannya sendiri (Sari, 2014).

### c. Uji Indole

Indol merupakan zat yang berbau busuk yang dihasilkan oleh bakteri yang ditumbuhkan dalam medium yang mengandung triptofan. Asam amino triptofan merupakan komponen asam amino ini dengan mudah dapat digunakan oleh mikroorganisme akibat penguraian protein. Adanya indol dapat ditentukan dengan cara menambahkan reagen *kovaks* yang mengandung *para-dimetil-aminobenzaldehida*. Uji indol berdasarkan pada pembentukan kompleks merah saat *indol* bereaksi dengan *aldehid* dari reagen *kovaks* (Priharta, 2008).

Uji indol digunakan untuk mengetahui mikroorganisme dapat menghasilkan enzim triptonase dan juga untuk mengetahui pergerakan sel (motilitas), hasil uji indol dari keempat isolat yakni negative (-), karena tidak menghasilkan adanya warna merah pada permukaan media setelah ditambahkan *reagen kovac*. Hal ini menandakan tidak adanya produksi indol dari *tryptophan* (Priharta, 2008).

Pergerakan sel (motilitas) merupakan karakteristik fisiologi biokimia yang digunakan untuk mengetahui pergerakan sel, yang dimungkinkan oleh adanya *flagel*. Hasil dari pergerakan sel (motilitas) pada isolat batang, daun dan biji adalah positif (+) yang menandakan adanya pergerakan sel yang disebabkan oleh adanya *flagel*. *Flagel* dapat menggerakkan sel sehingga bakteri dapat menyebar ke berbagai arah pada media. Hasil pergerakan sel (motilitas) isolat yang berasal dari akar adalah negative (-) yang menandakan bahwa tidak adanya pergerakan sel (Anggara, 2014).

d. Uji MR (*Methyl Red*)

Uji MR (*Methyl Red*) bertujuan untuk mengetahui terbentuknya asam hasil fermentasi (Harti, 2015). Penambahan reagen *Methyl Red* dapat menunjukkan adanya perubahan pH menjadi asam (Rezkianti, 20110). Hasil uji *Methyl Red* dari keempat isolat yakni pada isolat yang berasal dari akar, daun dan biji adalah negatif (-) yang menandakan bahwa tidak terbentuknya asam pada media, sedangkan pada isolat yang berasal dari batang adalah positif (+) yang menandakan bahwa terbentuknya fermentasi asam (Priharta, 2008).

e. VP (*Voges Paskeur*)

Uji (VP) *Voges Proskauer* digunakan untuk menentukan kemampuan bakteri menghasilkan produk akhir *acetyl-methyl carbinol (acetoin)* dari fermentasi 2,3 *butanadiol* (Anggara, 2014). Bila mikroorganisme dapat memfermentasi karbohidrat menjadi 2,3 *butanadiol* sebagai produk utama, maka akan terjadi penumpukan bahan 5%  $\alpha$ -naftol dalam etanol dapat menentukan adanya asetoin (*asetilmetilkarbonil*) yaitu suatu senyawa awal dalam sintesis 2,3-*butanadiol*. Pada penambahan KOH (Kalium Hidroksida), adanya asetoin ditunjukkan oleh perubahan warna media menjadi merah muda (Sari, 2014).

Hasil dari uji VP) *Voges Proskauer* keempat isolat yakni isolat yang berasal dari daun, batang dan biji adalah positif (+) Hal ini menunjukkan isolat bakteri ini dapat memfermentasikan karbohidrat (Parathan, 2008). Bakteri tertentu dapat memfermentasikan glukosa menjadi acetoin melalui jalur fermentasi butanadiol. Dalam suasana basa maka acetoin dan butanadiol akan dioksidasi menjadi diasetil. Diasetil akan bereaksi dengan  $\alpha$ -naftol yang memberi warna merah (Harti, 2015). Sedangkan hasil dari isolat yang berasal dari akar adalah negative (-), hal ini menunjukkan isolat bakteri ini tidak memfermentasikan karbohidrat (Parathan, 2008).

f. Uji SCA (*Simmon Citrat Agar*)

Uji sitrat merupakan uji yang digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon (Sardiani, 2015). Hasil uji Sitrat pada keempat isolat adalah positif (+) yang menandakan bahwa isolat ini menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Menurut Bibiana (1994), media fermentasi harus mengandung senyawa yang dapat dioksidasikan dan

difermentasikan oleh mikroorganisme. Senyawa tersebut berfungsi sebagai bahan dasar atau senyawa pemula untuk memperoleh energi dan sintesis sel.

g. Uji Fermentasi Karbohidrat

Uji fermentasi karbohidrat, merupakan uji yang dapat menentukan mikroorganisme dapat menfermentasikan karbohidrat. Pada uji ini digunakan tiga macam karbohidrat yakni glukosa, laktosa dan manitol. Hasil pada uji fermentasi karbohidrat dapat dilihat pada tabel 4.4. Hasil positif menandakan bahwa isolat memiliki kemampuan dalam melakukan fermentasi terhadap karbohidrat tersebut. Sedangkan hasil negatif menandakan bahwa isolat tidak dapat menfermentasikan karbohidrat tersebut (Melisa, *et al* 2016). Hasil akhir dari fermentasi karbohidrat ditentukan oleh sifat mikroba, media biakan yang digunakan, serta faktor lingkungan, antara lain suhu dan pH (Sari, 2014).

Berdasarkan hasil pengujian biokimia dan berpedoman pada *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, maka didapatkan hasil bahwa isolat yang berasal dari akar adalah genus *Burkholderia* sp, isolat yang berasal dari akar adalah genus *Pantoea* sp, dan isolat yang berasal dari daun dan biji adalah genus *Enterobacter* sp.

1) *Burkholderia* sp.

Genus *Burkholderia* terdiri lebih dari 40 spesies yang berbeda, yang menempati beragam ekologi di alam. Genus *Burkholderia* terdapat pada tanah, air, rizosfer, tanaman, sebagai bakteri endofit pada akar dan tunas, dan juga terdapat di *miselia* jamur. Semakin banyak hubungan simbiotik genus *Burkholderia* yang dilaporkan,

sifat biologis dan metabolisme *Burkholderia* dapat dimanfaatkan untuk biokontrol, pertumbuhan tanaman dan bioremediasi (Vandemme, 2006).

*Burkholderia* adalah genus bakteri gram negatif yang telah menarik peneliti dari berbagai disiplin ilmu. Genus *Burkholderia* memiliki fleksibilitas genetik dan metabolik yang cukup memungkinkan untuk dimanfaatkan diberbagai pengaturan lingkungan. Mayoritas spesies *Burkholderia* dianggap mikroorganisme aerobik dan tidak dapat tumbuh tanpa oksigen (Marco, 2017).

Bakteri Genus *Burkholderia* telah dilaporkan bertindak sebagai salah satu bakteri endofitik penting pada tanaman padi, jagung dan tebu (Mansila, 2015). Genus *Burkholderia* juga telah dilaporkan dapat menghasilkan enzim fitase dalam penelitian (Graminho *et al*, 2015) yang menyatakan berdasarkan analisis biokimia dan genetik mengungkapkan bahwa bakteri dari genus *Burkholderia* termasuk bakteri yang dapat menghasilkan fitase yang menunjukkan aktivitas spesifik  $174.1 \text{ U mg}^{-1}$ , enzim yang dihasilkan dari bakteri tersebut adalah monomer dan dapat stabil pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$ .

Klasifikasi Genus *Burkholderia* sp. adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Beta Proteobacteria

Order : Burkholderiales

Family : Burkholderiaceae

Genus : Burkholderia

Species : *Burkholderia* sp. (Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology).

## 2) *Pantoea* sp.

Genus *Pantoea* diusulkan pada tahun 1989, genus *Pantoea* tersebar luas di alam dan telah ditemukan di tanah, air, dll. Genus *Pantoea* memiliki karakteristik fenotipik yang umumnya terkait dengan genera lain dalam family *enterobacteriaceae* tersebut (Motarjemi, 2014). Genus *Pantoea* memiliki karakterisasi bakteri gram negative (-), berbentuk batang kecil. Pada umumnya bakteri ini diisolasi dari tanah, genus *Pantoea* mempunyai pH optimum 4,5 dan mempunyai temperatur optimum 37<sup>0</sup>C (Haryadi, 2007). Karakteristik lainya dari genus *Pantoea* yaitu *dihydrolase* negatif (-), pada umumnya dapat menfermentasi glukosa, laktosa, manitol, dan sukrosa, uji *indole* dan uji urease negatif (-), menghasilkan pigmen kuning. (Motarjemi, 2014).

Dalam penelitian (Haryadi, 2007), menyatakan bahwa genus *Pantoea* dapat menghasilkan enzim fitase yaitu pada spesies *Pantoea aglomerans*. Bakteri pada genus *Pantoea* ini mampu menguraikan senyawa organik kompleks dalam suatu bahan pakan menjadi senyawa organik sederhana yang lebih mudah diserap oleh alat-alat pencernaan sehingga diperoleh lebih banyak zat pakan yang dapat digunakan untuk pertumbuhan maupun produksi.

Klasifikasi Genus *Pantoea* sp. adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gamma Proteobacteria

Order : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Pantoea*

Spesies : *Pantoea* sp. (Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology).

### 3) *Enterobacter* sp.

Genus *Enterobacter* pertama kali diusulkan oleh Hormaeche dan Edwards (1960an). Genus *Enterobacter* termasuk dalam family *Enterobacteriaceae*, suku *Eschericheae*, family *Enterobacteriaceae* termasuk salah satu family terbesar dari *Eubacteriineae* dan termasuk bakteri gram negatif (-), ditemukan di alam, seperti pada air, limbah dan tanah. Mampu memfermentasikan glukosa dengan menghasilkan asam atau asam dan gas, bersifat fakultatif anaerobik berbentuk batang yang dapat bersifat motil atau non motil, strain bakteri motil mempunyai *flagella peritrik*, bakteri-bakteri tersebut juga memproduksi enzim katalase. Pada umumnya spesies ini tumbuh dengan baik pada kultur dengan media sederhana. Bakteri ini cenderung parasite dengan bergantung pada tanaman atau hewan atau bekerjasama dengan mendekomposisi material tanaman (Indarwati, 2000).

Pada penelitian (Yoon *et al*, 1996) menyatakan bahwa strain bakteri ini dapat menghasilkan enzim fitase yang diisolasi dari tanah dekat akar tanaman kacang-



kacangan. Aktivitas fitase dari bakteri ini diketahui 81,7% terletak dalam fraksi ekstraseluler. Aktivitas fitase maksimal teramati pada kisaran pH 7.0-7.5, dan sebagian besar stabil pada kisaran pH 6.0-8.0. Dan pada penelitian Elbeltagy *et al.* ((2001) yang telah melaporkan bahwa *Enterobacter cloacae* merupakan bakteri endofit yang dapat meningkatkan fiksasi nitrogen pada tanaman padi, sehingga membuktikan bahwa genus *Enterobacter* sp. merupakan bakteri endofit.

Klasifikasi Genus *Enterobacter* sp. adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Order : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : Enterobacter

Spesies : *Enterobacter* sp. (Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology).

Berdasarkan dari hasil penelitian, ada tiga hal yang menjadi output dari penelitian ini yakni iman, ibadah dan akhlak. Dari segi iman yakni iman kepada Allah swt, yaitu mempercayai bahwa Allah menciptakan segala sesuatu tidak ada yang sia-sia sesuai dengan isi surah An-Nahl ayat 13, dan iman kepada al-Qur'an yakni mempercayai kebenaran ayat-ayat al-Qur'an. Dari segi ibadah yakni salah satunya dengan melakukan amal, amal yang dimaksud disini adalah manfaat yang akan diperoleh oleh masyarakat dari hasil penelitian ini dan dari segi akhlak yakni seorang peneliti akan menjadi orang lebih tekun, teliti dan sabar dalam mengerjakan

penelitiannya, sehingga inilah yang akan menjadi akhlak-akhlak yang akan selalu diterapkan dalam kehidupan.



## BAB V

### PENUTUP

#### A. Kesimpulan

Adapun kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat 10 isolat bakteri yang mampu menghasilkan enzim fitase dari tanaman jagung (*Zea mays*) yang diberi kode isolat antara lain akar  $10^{-6}$  HF.1, akar  $10^{-6}$  HF.5, akar  $10^{-7}$  HF.7, batang  $10^{-6}$  HF.2, batang  $10^{-7}$  HF.2, daun  $10^{-6}$  HF.2, daun  $10^{-6}$  HF.3, biji  $10^{-6}$  HF.1, biji  $10^{-6}$  HF.3, biji  $10^{-8}$  HF.1. Empat isolat yang memiliki indeks fitatik (IF) tertinggi dari masing-masing organ yaitu akar  $10^{-7}$  HF.7 dengan indeks fitatik (IF) 1,365 cm, batang  $10^{-7}$  HF.2 dengan indeks fitatik (IF) 1,095 cm, daun  $10^{-6}$  HF.3 dengan indeks fitatik (IF) 1,36 cm dan biji  $10^{-8}$  HF.1 dengan indeks fitatik (IF) 0,98 cm, yang kemudian dilanjutkan untuk karakterisasi biokimia.
2. Ciri makroskopik ke-10 yakni semua ukuran isolat adalah sedang. bentuk isolat terdapat enam isolat berbentuk *irreguler*, dua isolat berbentuk *circular*, satu isolat berbentuk *filamentous* dan satu isolat berbentuk *rhizoid*. warna pada isolat terdapat lima isolat berwarna putih kekuningan, dua isolat berwarna putih bening, dua isolat berwarna kekuningan dan satu isolat berwarna putih susu. elevasi pada isolat terdapat delapan isolat yang berelevasi *raised*, satu isolat berelevasi *umbonate* dan satu isolat berelevasi *flat*. tepian pada isolat terdapat lima isolat yang memiliki tepian *undulate*, dua isolat yang memiliki tepian *entire*, satu isolat yang memiliki

tepiian *curled*, satu isolat yang memiliki *undulate* dan satu isolat yang memiliki *filamentous*. Permukaan pada isolat terdapat lima isolat yang memiliki permukaan halus mengkilat, empat isolat yang memiliki permukaan berkerut dan satu isolat yang memiliki permukaan kasar. Ciri mikroskopik sel dari keempat isolat yang terpilih yakni dua isolat berbentuk *coccus* yaitu isolat akar  $10^{-7}$  HF.7 dan daun  $10^{-6}$  HF.3, dua isolat berbentuk *basil* yaitu isolat batang  $10^{-7}$  HF.2 dan biji  $10^{-8}$  HF.1. Hasil pewarnaan gram yakni keempat isolat yang terpilih adalah bakteri gram negatif (-).

3. karakteristik keempat isolat yakni pada uji tsia (*triple sugar iron agar*) hasil uji isolat akar  $10^{-7}$  HF.7 adalah negatif (-), isolat batang  $10^{-7}$  HF.2, daun  $10^{-6}$  HF.3 dan biji  $10^{-8}$  HF.1 adalah positif (+). uji  $H_2S$  hasil uji keempat isolat adalah negatif (-). uji motilitas hasil uji isolat akar  $10^{-7}$  HF.7 adalah negatif (-), isolat batang  $10^{-7}$  HF.2, daun  $10^{-6}$  HF.3 dan biji  $10^{-8}$  HF.1 adalah positif (+). uji katalase hasil uji keempat isolat adalah positif (+). uji *indol* hasil uji keempat isolat adalah negatif (-). uji *methyl red* hasil uji isolat akar  $10^{-7}$  HF.7, daun  $10^{-6}$  HF.3, biji  $10^{-8}$  HF.1 adalah negatif (-), isolat batang  $10^{-7}$  HF.2 adalah positif (+). uji *voges paskeur* hasil uji isolat akar  $10^{-7}$  HF.7 adalah negatif (-), isolat batang  $10^{-7}$  HF.2, daun  $10^{-6}$  HF.3 dan biji  $10^{-8}$  HF.1 adalah positif (+). uji *citrat* hasil uji keempat isolat adalah positif (+). uji fermentasi karbohidrat pada isolat akar  $10^{-7}$  HF.7 laktosa negatif (-), maltos dan glukosa positif (+), pada isolat batang  $10^{-7}$  HF.2, daun  $10^{-6}$  HF.3 dan biji  $10^{-8}$  hf.1 laktosa, maltose dan glukosa positif (+).

## **B. Saran**

Adapun saran-saran yang disampaikan adalah sebagai berikut:

1. Isolat-isolat yang telah diisolasi dan didapatkan dalam penelitian ini untuk dikoleksi sebagai stok isolat bakteri endofit penghasil fitase, mengingat bahwa bakteri ini akan bermanfaat untuk menghasilkan enzim fitase yang berguna untuk pakan ternak.
2. Mengetahui bahwa bakteri yang didapatkan pada penelitian ini adalah bakteri pathogen, sehingga diperlukannya kesterilan apabila ingin mengerjakan atau menggunakan bakteri tersebut.
3. Menggali galur-galur mikroorganisme yang dapat menghasilkan enzim fitase dari sampel lainnya, sehingga bakteri yang mampu menghasilkan enzim fitase dapat lebih tereksplor lagi.
4. Isolat-isolat yang telah didapatkan, akan lebih baik jika disimpan dengan metode lain seperti leofilisasi, agar tidak terjadinya mutasi pada isolat.

## KEPUSTAKAAN

- Amelia, Roawita. “Karakterisas Isolat Bakteri Penghasil Fitase Asal Kutu Jagung (*Sitophilus zeamays*)”. *Tesis*. Bogor: Program Studi Bioteknologi Sekolah Pascasarjan Institut Pertanian Bogor, 2010.
- Anggara, Bondan Surya, Yuliani, Lisa Lisdiana. “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Hormon *Indole Acetic Acid* dari Akar Tanaman Ubi Jalar”. *LenteraBio*. 3 No. 3 (September 2014): 160–167.
- Anggaraini Rika, Aliza Dwinna, Mellisa Siska. “Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophilla* Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Yang diBudidayakan Di Kecamatan Baitussalam Kabupate Aceh Besar”. *Journal ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. 1 No.2 (Agustus, 2016): 271-286.
- Bacon, C.W and M.R Siegel . “Isolation Of Biotechnological Organisms From Nature. Mc Gaw-Hill Environment Biotechnology “. *Series US*. (1990) : 259-279.
- Badan Perijinan dan Penanaman Modal Daerah Provinsi Kalimantan Timur. *Budidaya Tanaman Jagung Terintergrated dengan Industri Pakan Ternak*. (Diakses 6 Mei 2016).
- Balai Pertanian Teknologi Pertanian Aceh. “Pemanfaatan Limbah Jgung Sebagai Sumber Pakan Bagi Ternak”. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian. Post 24 Januari 2016.
- Barabara J.E.S ., and Christine J. C. B. “What Are Endophytes In Microbial Root Endhopytes”. (Eds: Thomas N.Sieber) Springer-Verlag. Berlin, 2006.
- Bergman, E. L., K Autio dan A.S. Sandberg. “Optimal Condition for Phytate Degradation, Estimation of Phytase Activity and Localization of Phytate in Barley (Cv. Blenheim)”. *J rgic. Food Chem*. 2000.
- Bohn L, Meyer A S, Rasmussen SK. “Phytate: Impact on Environment and Human Nutrition A Challenge for Molecular Breeding”. *J Zhejiang Univ Sci B*. 9 (2008):165-191.
- Clay, K.” *Fungal endophytes of grasses: A Devensive Mutualism Between Plants and Fungi*”. *Ecology*. 69 no 1(1991): 10-16.

- Daniel, T. C., A. N. Sharpley dan J. L. Lemunyon, 1988. "Agricultural Phosphorus and Eurotrophication: A Symposium Review". *J. Enviro Quality* 27 (1988): 251-157.
- DeBoer, I. J. M., H. T. A. Peters, M. Grossman dan W. J. Koops, "Nutrien Flows in Agriculture in the Netherland with Special Emphasis on Pig Production" *J. Anim Sci.* 75 (1997): 2054-2063.
- Don J. Brenner, Nole R.Krieg, James T. Staley. "*Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*". Second Edition.
- Ekowati Diah and Mochamad Nasir. "Pertumbuhan Tanaman Jagung (*zea mays*) Varietas Bisi-2 Pada Pasir Reject dan Pasir Asli di Pantai Trisik Kulonprogo (*the growth of maize crop (Zea mays) Bisi-2 Variety on Rejected and Non Rejected Sand at Pantai Trisik Kulon Progo*)". *J. Manusia dan Lingkungan*. 18 No. 3 (November 2011) : 220 – 231.
- Evy Novita Sari, Sajidan, Sugiyarto. "Identifikasi Bakteri Penghasil Fitase Dan Karakterisasi Fitase Dari Kawah Sikidang Dieng". *El-Vivo*. 1 No.1 (September 2013): 13-23.
- Fardiaz, S. "*Fisiologi Fermentasi*". Bogor: PAU Dan Lembaga Suber Data Informasi 1998.
- Feng Y, D Shen and Song W. 2006. "Rice endophyte *Pantoea agglomerons* Y19 promotes host plant growth and affects allocation of host photosynthates". *J. Appl. Microbiol.* 938-945.
- Fesal. "Pengolahan Limbah Tanaman Jagung Untuk Pakan Ternak Sapi Potong". Seminar Nasional Inovasi Teknologi Pertanian. Balai Penelitian Tanaman Serealia. Balai Penelitian Tanaman Serealia, 2013.
- Graminho Eduardo Rezende, Naoki Takaya, Akira Nakamura, Takayuki Hoshino. "Purification, biochemical characterization, and genetic cloning of the phytase produced by *Burkholderia* sp. strain a13". *J. Gen. Appl. Microbiol.* 61 (2015):15-23.
- Hanafiah, K.A., Anas, I., Napoleon, A.,Ghoffar, N. "*Biologi Tanah. Ekologi dan Makrobiologi Tanah*". Jakarta: PT Raja Grafindo Persada, 2005.
- Harni, Rita. "Prospek Penggunaan Bakteri Endofit Untuk Pengendalian Nematoda *Pratylenchus brachyurus* Pada Tanaman Nilam". *Perpektif*. 13 No. 1 (Juni 2014): 1-12.
- Harti, Agnes Sri. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta: CV.Andi Offset, 2015.

- Haryadi, Dwi. "Pengaruh Pemanfaatan Bakteri Penghasil Fitase (*Pantoea agglomerans*) Dalam Ransum Terhadap Kualitas Karkas Ayam Broiler". *Skripsi*. Surakarta: Program Studi Peterakan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta, 2007.
- Indarwati, Sri. "Isolasi dan Modifikasi Media Produksi Bakteri Penghasil Fitase". *Skripsi*. Bogor: Program Studi Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, 2000.
- Irianingrum, Retno. "Kandungan Asam Fitat Dan Kualitas Dedak Padi Yang Disimpan Dalam Keadaan Anaerob". *Skripsi*. Bogor: Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. 2009.
- Irving, G.C.J and D.J. Cosgrove. "Inositol phosphate phosphatases of microbiological origin: the inositol pentaphosphate products of *Aspergillus ficuum* phytases". *J. Bacteriol.* 112 no 1 (1972): 434-438.
- Kerovuo, J. "A novel phytase from Bacillus: Characterization and Production of the enzym". Dissertation Univ. Helsinki, Finland, 2000.
- Kerovuo, J., M Lauraeus., P. Nurminen., N. Kalknen and J. Apajalahti. "Isolation, characterization, molecular gene cloning and sequencing of a novel phytase from Bacillus subtilis". *Applied Environmental Microbiology*, 1998.
- Khairani, Gustin. "Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) Dari Akar Tanaman Jagung (*Zea Mays*)". *Skripsi*. Sumatera Utara: Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Sumatera Utara, 2010.
- Khairani, Gustin. "Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon IAA Dari Akar Tanaman Jagung (*Zea mays*)". *Skripsi*. Medan: Program Studi Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara Medan, 2009.
- Kolver, E. "Nutrition Guidline for the High Producing for Dairy Cow". *Dairying Research Corporation Hamilton*, 1999.
- Kornegay E T. "Nutritional, environmental, and economic considerations for Using Phytase in Pig and Poultry Diets. Di dalam: Kornegay E T". editor. *Nutrient Management of Food Animals to Enhance and Protect The Environment*. New York: CRC Press, 1996.
- Kurniawati, Yulia Ratri dan Yuanita, Leny. "Pengaruh Asam Sitrat Dan Fitase Bacillus Subtilis Hg Pada Jagung (*Zea mays* L) Terhadap Bioavailabilitas



- Mineral Ca (in-vitro)". *UNESA Jurnal Of Chemistry*. 3 No.1 (Januari 2014): 96-102.
- Kushartono Bambang dan Iriani Nani. "Prospek Pengembangan Tanaman Jagung Sebagai Sumber Hijauan Pakan Ternak" . Prosiding Temu Teknis Fungsional Non Peneliti, 2003.
- Kusharyoto, Wien. "Produksi Fitase oleh *Aspergillus fiscum* dengan Fermentasi Substrat Padat Untuk Aplikasinya Dalam Pakan Ternak (12 mei 2016).
- Lay, B. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada, 1994.
- Lei X G, Porres J M, Mullaney E J, Brinch-Pedersen H. "Phytase: source, structure, and application. Di dalam: Polaina, MacCabe". *Industrial Enzymes*. (2007): 505-529.
- Lima-Filho, G.L., U.C. Aroujo, G.M.T. Lima, L.M.C. Aleixo, S.R.F. Moreno, S.D. Santos-Filho, R.S. Freitas, M.V. Castro-Faria, and M. Bernando-Filho. "A new in vitro enzymatic methode to evaluate the protective effect of phytic acid againts copper ions". *Pakistan J. Nutr*. 3 (2004): 118-121.
- Liu, J., D.R. Ledoux and T.L. Veum. " In Vitro Procedure for Predicting the Enzymatic Dephosphorylation of Phytate in Corn-soybean Meal Diets for Growing Swine". *J,Agric Food Chem* 45: 2612-2617.
- Maenz, D.D, Classen H.L. "Phytase Activity In The Small Intenstinal Brush Border Membrane Of The Chicken". *Poult Sci*. 77 (1998):557-563.
- Manzila Ifa, Tri Puji Priyatno, Muhammad Faris Fathin, Laksmi Ambarsari, Yadi Suryadi, I Made Samudera, dan Dwi Ningsih Susilowati. "Karakterisasi B-1,3-1,4-Glukanasebakteri Endofitik *Burkholderia cepacia* Isolate76 Asal Tanaman Padi [Characterization of  $\beta$ -1,3-1,4-Glucanase from Rice Endophytic Bacterium *Burkholderia cepacia* E76]". *Berita Biologi*. 14 no 2 (Agustus 2015): 143-153.
- Marco, Diana. *Metagenomics: Current Advances and Emerging Concepts*. Argentina: Caister Academic Press, 2017.
- Mellisa, Siska, Rika Anggraini, DwinnaAliza. "Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Yang Dibudidayakan Di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar". *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. 1 No 2 (Agustus 2016): 270-286.

- Motarjemi Yasmine, Gerald Moy, Ewen Todd. *Encyclopedia Of Food Safety*. London: Academic Press is an Imprint Of Elsevier, 2014.
- Muhadjir, F. “*Budidaya Tanaman Jagung. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian*”. Bogor, 1988.
- Oh, B.C, Choi. Of W.C, Park S, Kim Y.O, Oh, T.K. “Biochemical Properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytase”. *Appl Microbiol Biotechnol* .63 (2004): 362-372.
- Pallauf, J. and G, Rimbach. “Nutritional significance of phytic acid and Phytase, Arch”. *Animal Nutrition*. 50 (1996): 301-319.
- Pelczar, M. J & E. C.S. Chan. “*Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*”. Jakarta: Universitas Indonesia, 2006.
- Pranoto Eko, Gilang Fauzi dan Hingdri. “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Pada Tanaman Teh (*Camellia Sinensis* (L.) O. Kuntze) Produktif dan Belum Menghasilkan Klon GMB 7 Dataran Tinggi”. *Biospecies*. 7 No.1 (Januari 2014): 1-7.
- Pratiwi, Brasti Eka. “Isolasi dan Skirining Fitokimia Bakteri Endofit Dari Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Yang Berpotensi Sebagai Antibakteri”. *Skripsi*. Jakarta: Program Studi Farmasi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, 2015.
- Priharta, Antonious Alfian Yuan Dias. “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Dalam Batang Tanaman *Artemisia annua* L. Yang diUji Potensi Antibakterinya Terhadap *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*”. *Skripsi*. Yogyakarta: Program Studi Farmasi. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta, 2008.
- Priharta, Antonius Alfian Yuan Dias. “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dalam Batang Tanaman *Artemesia annua* yang diuji Potensi Bakterinya Terhadap *Eschericia coli* dan dan *Staphylococcus aureus*”. *Skripsi*. Yogyakarta: Program Studi Framasi. Universitas Sanata Dharma.
- Purwanto Ukhradiya Magharaniq Safira , Pasaribu Fachriyan Hasmi, Bintang Maria Bintang. “Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri”. *Current Biochemistry*. 1 No. 1 (Maret 2014): 51-57.
- Quadt-Hallmann A, Benhamou N, and Kloepper JW. “Bacterial Endophytes in Cotton: Mechanisms of Entering the Plant Can”. *J. Microbiol*. 43 (1997): 577-582.

- Radji, Maksum. "Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal". *Laboratorium Mikrobiologi dan Depok. 113-126. Departemen Farmasi, FMIPA-UI, Kampus UI Depok 16424 Majalah Ilmu Kefarmasian. No.3 (Desember 2005): 113 – 126.*
- Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian. 2 No 3 (Desember 2005): 112-126.*
- Rezkianti. "Isolasi Mikroba Endofit Penghasil Antibiotik Dari Alga Laut (*Euchema cottoni*) Asal Perairan Laut Galesing Utara Kabupaten Takalar". *Skripsi. Makassar : Program Studi Biologi. Fakultas Sains Dan Teknologi, 2011.*
- Rinaldi, Ernita Milda, Marni Yunis. "Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Jagung (*Zea mays*) Yang Ditumpangsarikan Dengan Kedelai (*Glycine max*). Agroteknologi Universitas Tamansiswa, 2009.
- Robert s. Breed, E. G. D. Murray, Nathan R. Smith. "*Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*". Seventh Edition, 1957.
- Roesmarkam, A. dan N. W. Yuwono. "*Ilmu Kesuburan Tanah*". Yogyakarta: Penerbit Kanisius, 2002.
- Rosita Aan. "Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Umbi Tanaman Kentang (*solanum tuberosum*) Menggunakan Primer PCR-RAPD". *Skripsi. Malang: Program Studi Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri (Uin) Maulana Malik Ibrahim Malang, 2012.*
- Sajidan. "Aplikasi Enzim Fitase untuk Campuran Pakan Ternak Unggas". *Seminar Nasional sosialisasi dan Promosi Hasil Penelitian. UNS. Surakarta, 2004.*
- Sangadji, Insun. *Enzim Fitase dan Peranannya dalam Memecah Ikatan Asam Fitat pada Pakan*. Makalah Pengantar Falsafah Sains, Program Pasca Sarjana ITB, 2004. (Diakses 06 Mei 2016)
- Sardiani Nenis, Magdalena Litaay, Risco G. Budji, Dody Priosambodo, Syahribulan, Zaraswati Dwyana. "Potensi *Tunikata rhopalaea* sp Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri; 1. Karakterisasi Isolat". *Jurnal Alam dan Lingkungan. 6 No.11 (Maret 2015).*
- Sari, Novita Evi. "Identifikasi Bakteri Penghasil Fitase Berdasarkan Gen 16S rRNA dan Karakterisasi Fitase dari Kawah Sikidang Dieng". *Tesis. Surakarta: Program Studi Biosain Pascasarjana Universitas sebelas maret Surakarta, 2012.*

- Sari, Nur Indah . “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kecamatan Patallasang Kabupaten Gowa”. *Skripsi*. Makassar : Program Studi Biologi. Fakultas Sains Dan Teknologi, 2014.
- Selle, P. H., V. Ravindran., R. A. Cadwell and W. L. Bryden. “Phytate and Phytase: Consequences for Protein Utilisation”. *Nutrition Reviews*. (2000): 255-278.
- Shin, S., N.C. Ha, B.C. Oh, T.K. Oh, and B.H. Oh. “ Enzyme Mechanism and Catalytic Property of Propoller Phytase”. *J. Structure*. 9 (2001).
- Shin, S., N.C. Ha, B.C. Oh, T.K. Oh, and B.H. Oh. “Enzyme Mechanism and Catalytic Property of Propeller Phytase Structure” 9 (2001): 851-858.
- Singh Nand Kumar, Dharmendra Kumar Joshi, Raj Kishor Gupta. “Isolation of Phytase Producing Bacteria and Optimization of Phytase Production Parameters”. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 6 no 5 (01 July 2013): 2-8.
- Skoglund E, Carlsson N G, Sanberg A S. “Analysis of mono - and diphosphate isomers using high-performance ion chromatography and pulsed amperometric detection”. *J Agric Food Chem*. 45 (1997): 4668-4673.
- Strobel, G.A., Dan B.Daisy .“Bioprospecting For Mycrobial Endhopytes an Their Natural products”. *Microbia and Mol. Biology Rev*. 67 No 4 (2003): 63-68.
- Suarni dan S. Widowati. *Struktur, Komposisi, dan Nutrisi Jagung*. Maros: Balai Penelitian Tanaman Serealia, 2001. (Diakses 06 Mei 2016)
- Suriaman, Edi. “Potensi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) dalam Memfiksasi N<sub>2</sub> di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (*Indole Acetit Acid*) Secara Invitro”. *Skripsi*. Malang: Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negri Maulana Malik Ibrahim Malang, 2010.
- Syafruddin. “Tolak Ukur dan Konsentrasi Al untuk Penapisan Tanaman Jagung terhadap Ketengangan Al”. *Puslitbangtan*. 24 (2002): 3-4.
- T.Christina Nidya Putri. “Analisis Pengaruh Jarak Sumber Gelombang Bunyi Terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung (*Zea mays L.*)”. *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Fisika Jurusan Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu, 2014.

- Tan, R.X and W.X Zou. "Endophytes a rich source of functional metabolites". *Nat prod Rep*.18 (2001): 448-459.
- Tarabily, K., A.H. Nassar., K. Sivasithamparam. "Promotion Of Plant Growth By An Auxin- Producing Isolate Of the yeast williopsis saturnus endophytic in Maize roots". *The Sixth U. A. E University Research Conference*, (2003): 60-69.
- Tjitrosoepomo, C. "*Taksonomi Tumbuhan*". Yogyakarta: Gajah Mada University Press, 1991.
- Ullah, A. H. J. "*Aspergillus ficuum* phytase: partial primary structure, substrate selectivity, and kinetic characterization". *Prep.Biochem*. 18 (1998): 459-471.
- Usuki F and Narisawa K. "A Mutualistic Symbiosis Between a Dark Septate Endophytic Fungus, Heteroconium Chaetospora, and a Nonmycorrhizal Plant, Chinese Cabbage". *Mycologia*. 99 no 2 (2007): 175–184.
- Vandamme Peter dan Tom Coenye. *Burkholderia* Molecular Microbiology and Genomics. Horison: British Library, 2006.
- Vanlaere, E, Baldwin, A, Gevers, Henry, De Brandt, LiPuma, JJ; Mahenthiralingam, Speert, Dowson, Vandamme. "Taxon a complex within the *Burkholderia cepacia* complex, comprises at least two novel species, *Burkholderia contaminans* sp. nov. and *Burkholderia lata* sp.". *Int J Syst Evol Microbiol*. 59 (25 Maret 2013):102–11.
- Widowati, Sri, D. Andriani, E.I Riyanti, P. Raharto, dan L. Sukarno. "Karakterisasi Fitase dari *Bacillus Coagulans*". Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor, 2001 (Diakses 09 Mei 2016)
- Wills, M.R., J.B. Philips, R.C. Day and E.C. Bateeman. "Phytic Acid and Nutritional Rickets in Immigrants". *Lancet*. 1 no 7754 (1972): 771.
- Wulandari, Sari. "Analisis Gen 16S rRNA Pada Bakteri Penghasil Enzim Fitase". *Tesis*. Surakarta: Program Studi Biosains.Universitas Sebelas Maret Surakarta, 2011.
- Yoon, S.C. "Isolation and Identification of Phytase Producing Bacterium, Enterobacter sp and Enzyme Properties of Phytase Enzyme". *Enzym and Microbial Tech*. 18 no 1 (1996) : 449-454
- Yulia Ratri Kurniawati dan Leny Yuanita. "Pengaruh Asam Sitrat dan Fitase *Bacillus subtilis* hg pada jagung (*Zea mays* L) Terhadap Bioavailabilitas

Mineral Ca (in-vitro)". *Journal of chemistry*. 3 No.1 (Januari, 2014): 96-102.

Yuwono, Triwibowo. "*Biologi Molekular*". Jakarta: Erlangga, 2005.

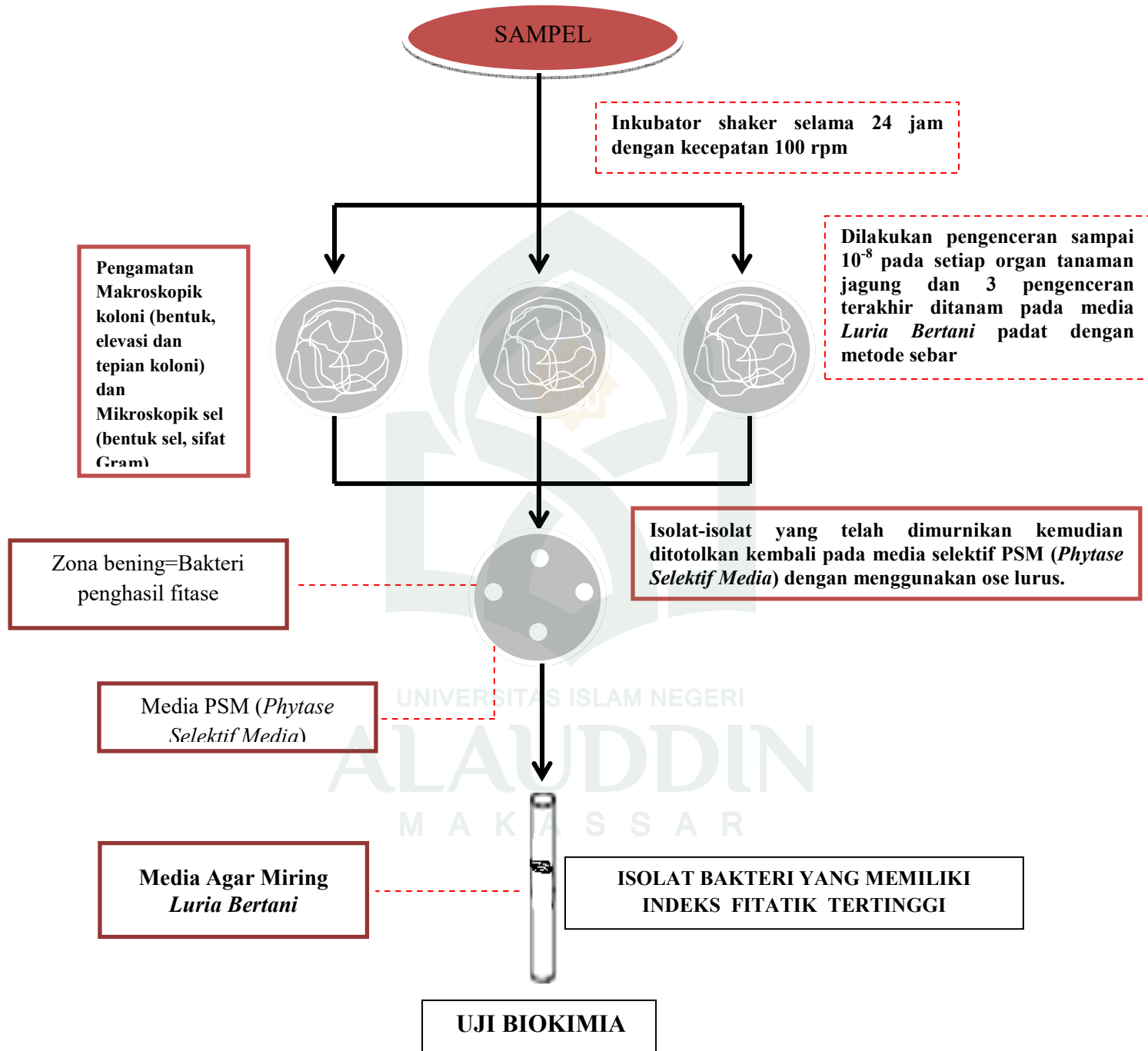


## LAMPIRAN-LAMPIRAN

### Lampiran 1. Skema Penelitian

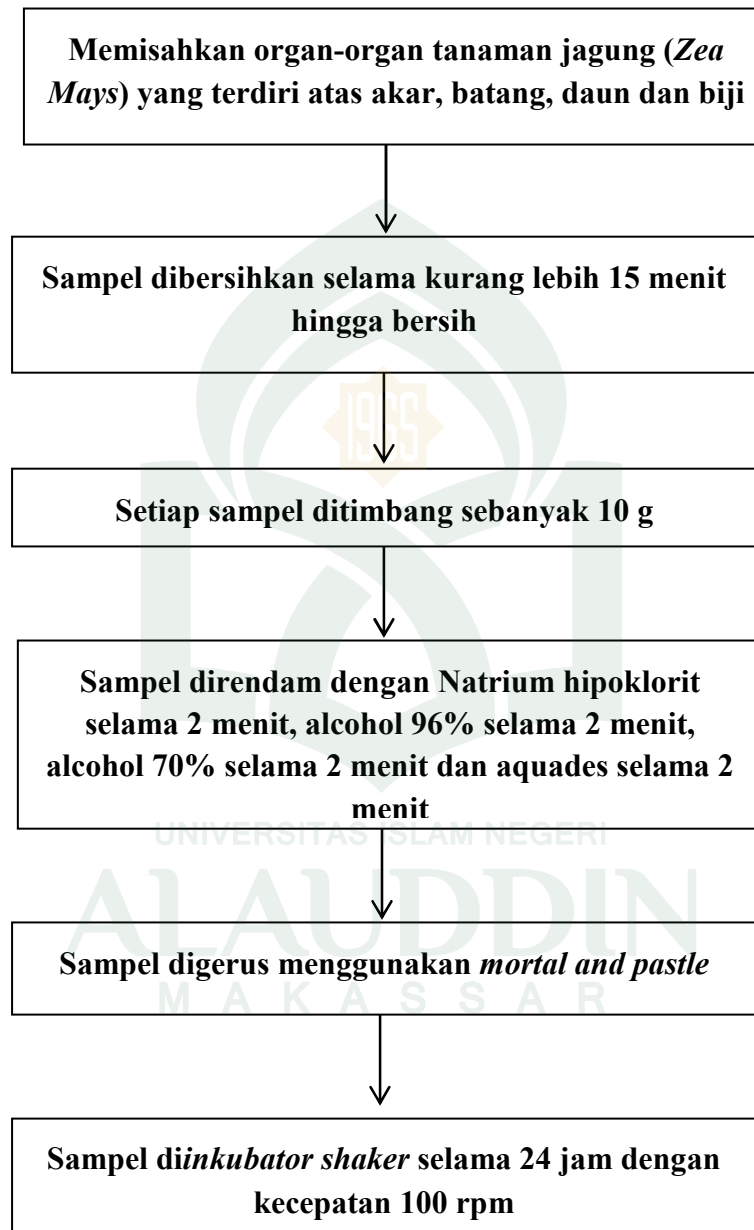


## Lampiran 2. Alur Kerja Penelitian





### Lampiran 3. Preparasi Sampel Tanaman Jagung (*Zea Mays*)



## Lampiran 4. Komposisi dan Cara Pembuatan Media

### a. Komposisi dan Cara Pembuatan Media *Luria Bertani* padat

Bahan	Jumlah
Bacto Agar	20 gr
Peptone	10 gr
NaCl	10 gr
Yeast Ekstrak	5 g
Akuades	1000 ml

Semua bahan dilarutkan dalam akuades kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dan dipanaskan hingga larut lalu pH media ditepatkan 7. Larutan tersebut disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C menggunakan autoklaf.

### b. Komposisi dan Cara Pembuatan Media *Luria Bertani* cair

Bahan	Jumlah
Peptone	10 gr
NaCl	10 gr
Yeast Ekstrak	5 g
Akuades	1000 ml

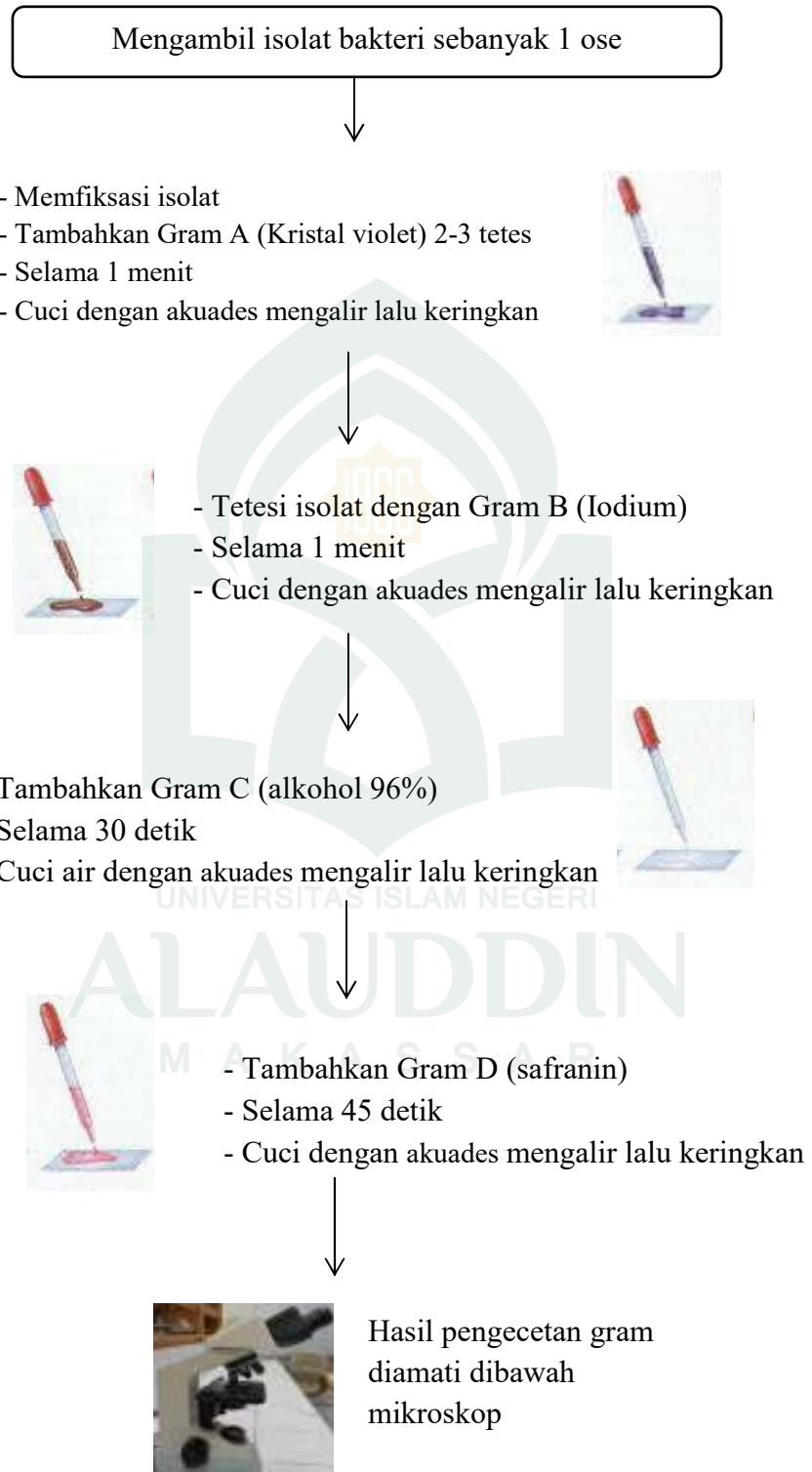
Semua bahan dilarutkan dalam akuades kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dan dipanaskan hingga larut lalu pH media ditepatkan 7. Larutan tersebut disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C menggunakan autoklaf.

### c. Komposisi dan Cara Pembuatan Media PSM (*Phytase Selektif Media*)

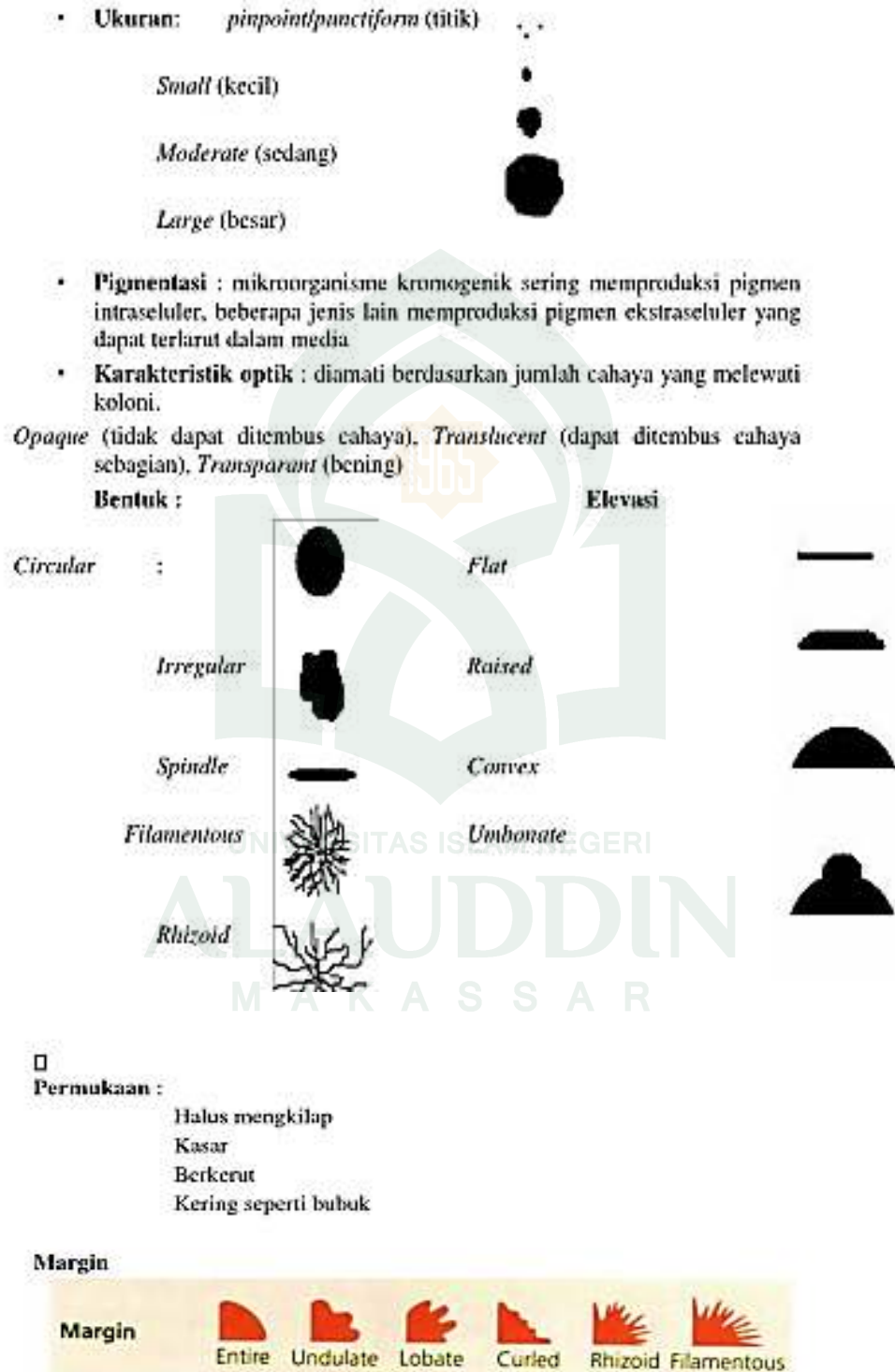
Bahan	Jumlah
Bacto Agar	20 gr
Ca-Fitat	0,5%
Glukosa	1,5%
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,5%
NaCl	0,01%
KCl	0,05%
FeSO <sub>4</sub>	0,001%
MgSO <sub>4</sub>	0,01%
CaCl <sub>2</sub>	0,01%
MnSO <sub>4</sub>	0,001%
Akuades	1000 ml

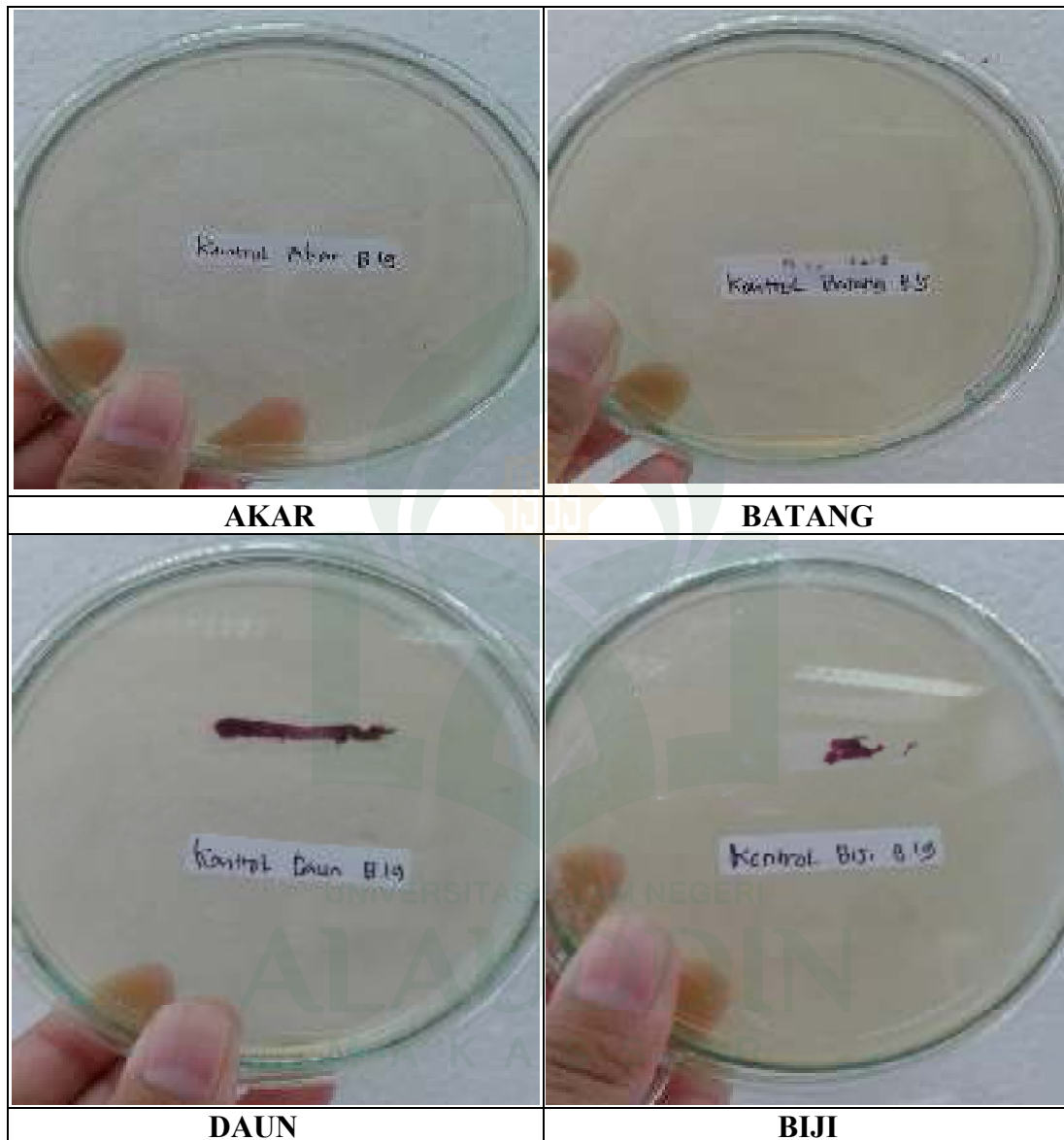
Semua bahan dilarutkan dalam akuades kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* dan dipanaskan hingga larut lalu pH media ditepatkan 7. Larutan tersebut disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C menggunakan autoklaf.

### Lampiran 5. Pewarnaan Gram Bakteri



## Lampiran 5. Penuntun Pengamatan Makroskopik



**Lampiran 6. Gambar Kontrol Hasil Bilasan Sampel**

### Lampiran 7. Gambar Sampel Tanaman Jagung



SAMPEL AKAR



SAMPEL BATANG



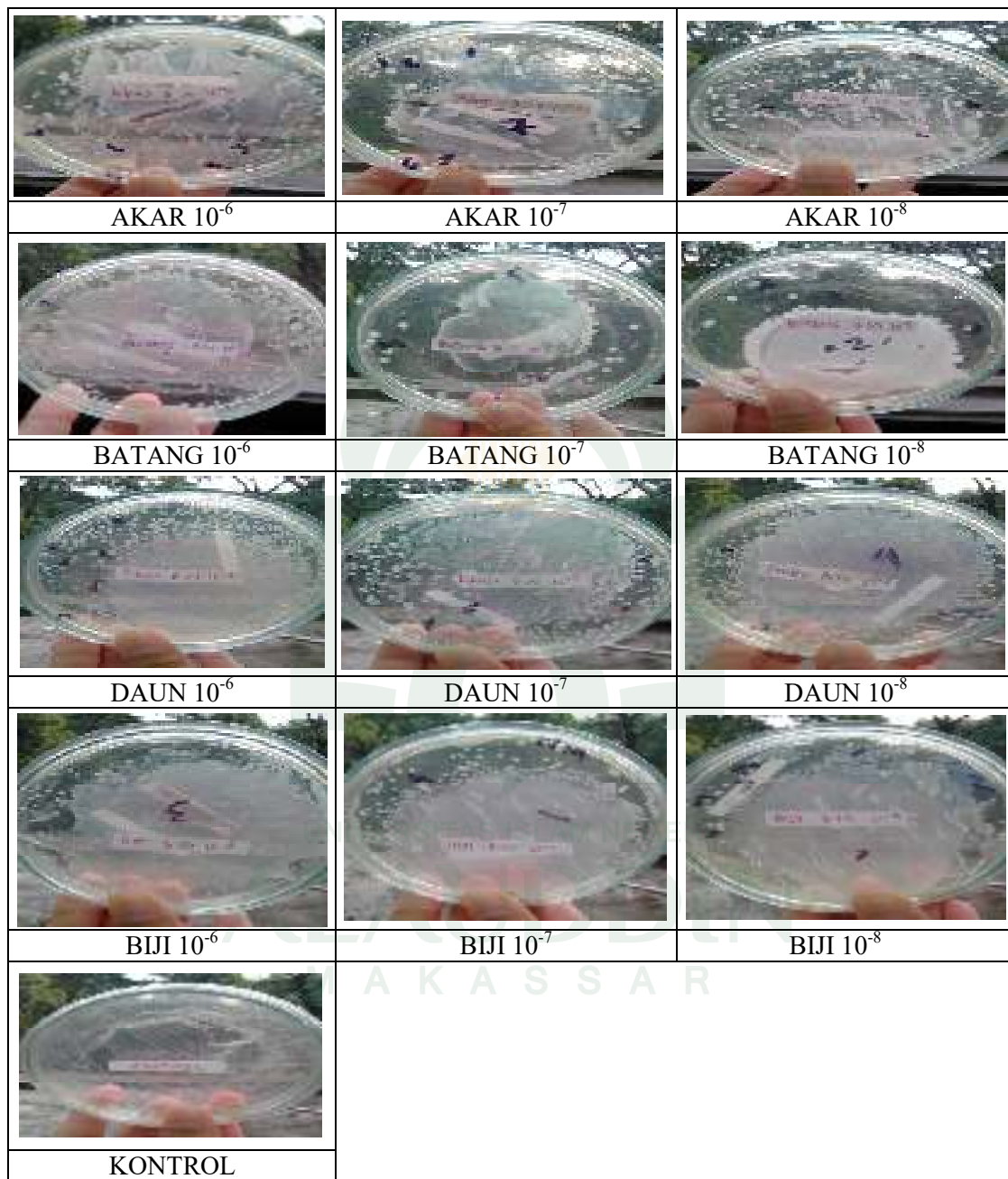
SAMPEL DAUN



SAMPEL BIJI
























KONTROL

**Lampiran 8. Gambar Metode Sebar**

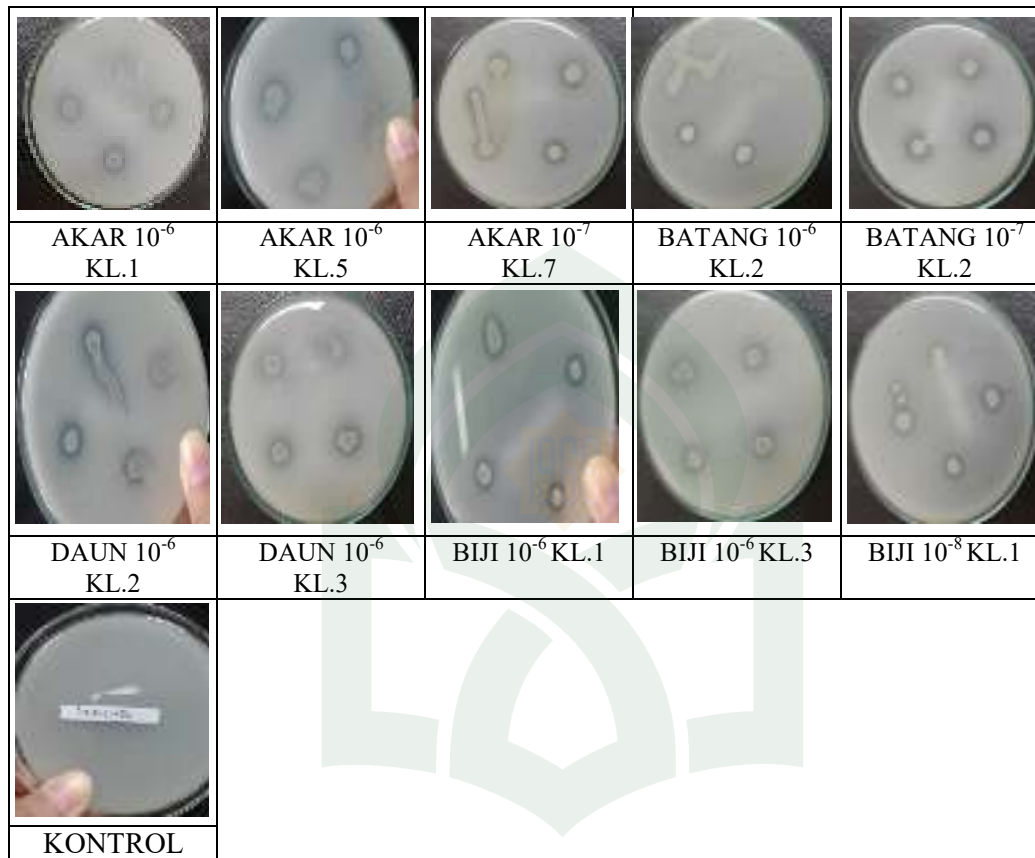


**Lampiran 9. Gambar Goresan Kuadran Isolat terpilih dari Metode Sebar**

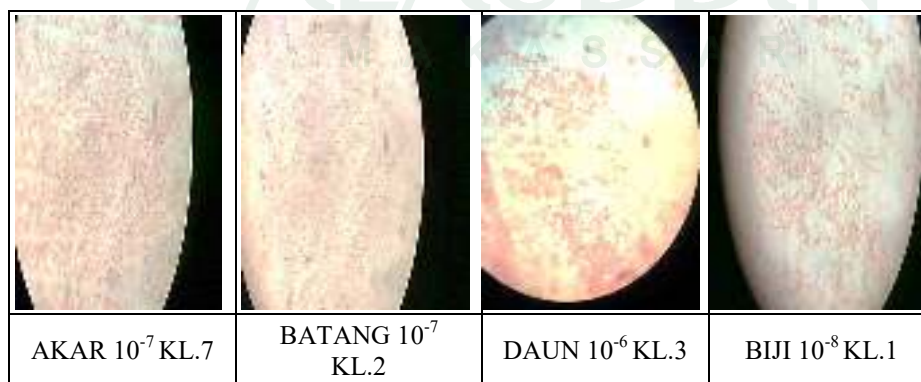
				
AKAR 10 <sup>-6</sup> KL.1	AKAR 10 <sup>-6</sup> KL.3	AKAR 10 <sup>-6</sup> KL.5	AKAR 10 <sup>-7</sup> KL.1	AKAR 10 <sup>-7</sup> KL.3
				
AKAR 10 <sup>-7</sup> KL.7	BATANG 10 <sup>-6</sup> KL.2	BATANG 10 <sup>-6</sup> KL.4	BATANG 10 <sup>-7</sup> KL.2	BATANG 10 <sup>-7</sup> KL.3
				
BATANG 10 <sup>-8</sup> KL.3	DAUN 10 <sup>-6</sup> KL.1	DAUN 10 <sup>-6</sup> KL.2	DAUN 10 <sup>-6</sup> KL.3	DAUN 10 <sup>-7</sup> KL.1
				
BIJI 10 <sup>-6</sup> KL.1	BIJI 10 <sup>-6</sup> KL.2	BIJI 10 <sup>-6</sup> KL.3	BIJI 10 <sup>-7</sup> KL.2	BIJI 10 <sup>-8</sup> KL.1
				
KONTROL				



**Lampiran 10. Gambar Aktivitas Fitatik (Membentuk Zona Bening) dari Isolat Yang Terpilih**

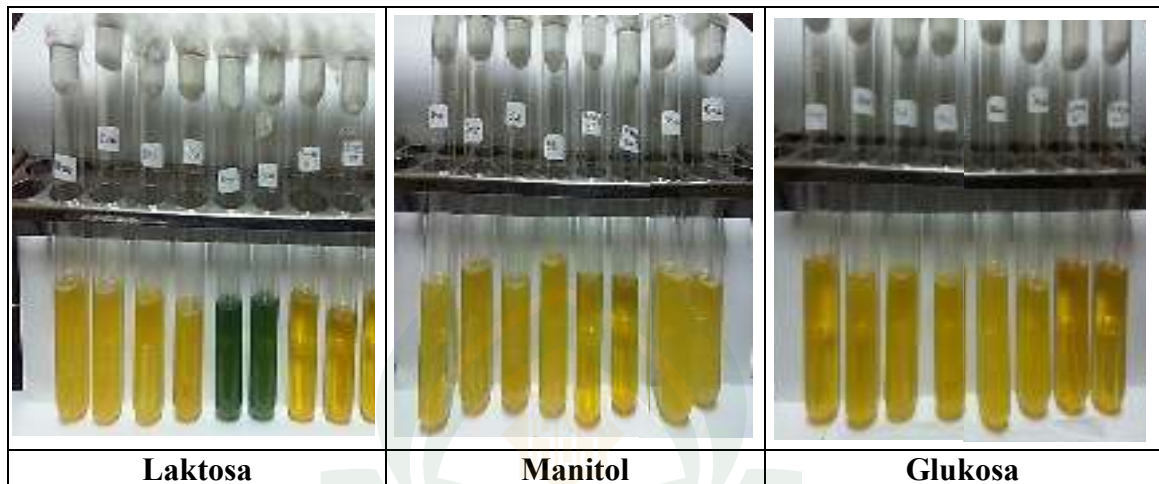


**Lampiran 11. Gambar Pewarnaan Gram dari Isolat Yang Terpilih**



## Lampiran 12. Gambar Hasil Uji Biokimia dari Isolat yang Terpilih

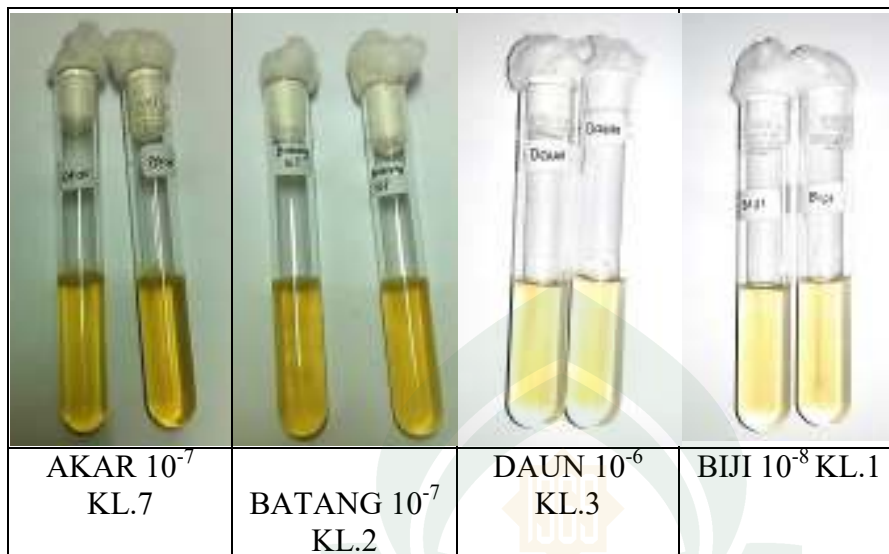
### 1. Hasil Uji Fermentasi Karbohidrat



### 2. Hasil Uji TSIA (*Tryple Sugar Iron Agar*)



### 3. Hasil Uji Motilitas



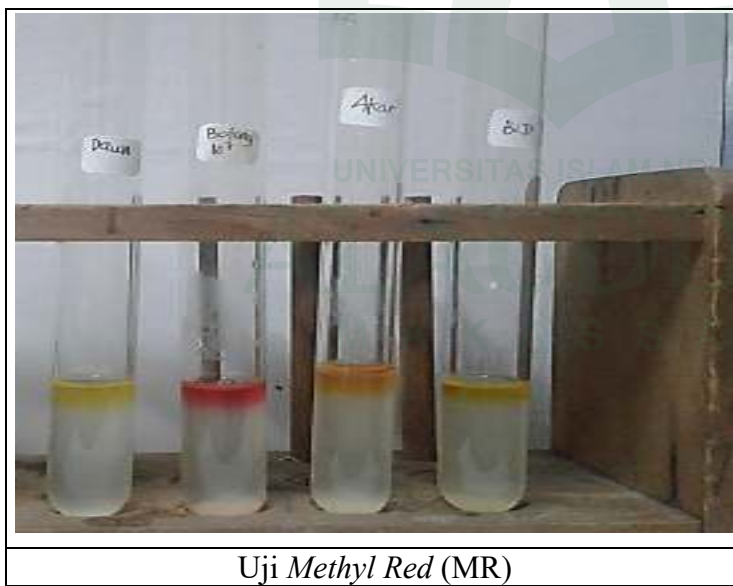
### 4. Hasil Uji Katalase



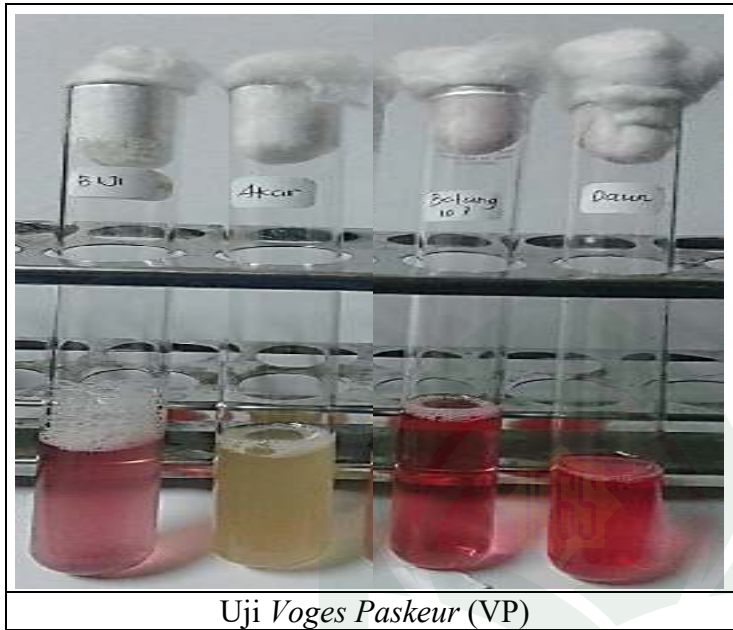
### 5. Hasil Uji *Indole*



### 6. Hasil Uji *Methyl Red* (MR)



### 7. Hasil Uji *Voges Paskeur* (VP)



### 8. Hasil Uji *Simmon Citrat Agar* (SCA)



Note : Uji  $H_2S$  dapat dilihat pada uji TSIA (*Tryple Sagar Iron Agar*), dan uji motilitas dapat dilihat pada uji *Indol*.



### Lampiran 13. Alat dan Bahan Penelitian

## 1. Alat-Alat Penelitian



## 2. Bahan-Bahan Penelitian



**Lampiran 14. Lampiran-Lampiran Lainnya**

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
**ALAUDDIN**  
M A K A S S A R

## RIWAYAT HIDUP



**Nurhikmah**, di lahirkan di Desa Pancana, Kec.Tanete Rilau, Kab.Barru pada tanggal 05 Juli 1995. Anak 1 (pertama) dari 2 (Dua) bersaudara, buah hati dari pasangan Marhabang H.Iskandar, dan Sanang Palewai. Riwayat pendidikan yaitu, **SDN 18 Coppeng-Coppeng** pada tahun 2001. Penulis melanjutkan sekolah di **SMPN**

**2 Tanete Rilau Kab.Barru**. Penulis berada di kursi sekolah menengah atas tepatnya di **SMAN 2 Barru**, Penulis kemudian melangkah ke Perguruan Tinggi Negeri di Makassar yaitu **Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar** melalui jalur UMM (Ujian Masuk Mandiri) tahun 2013, **Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi**.

Selama menjadi Mahasiswa Penulis aktif menjadi asisten praktikum di Laboratorium Biologi. Kemudian penulis juga PKL di Laboratorium Nechri Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo dan Laboratorium Molekuler Rumah Sakit Pendidikan Unhas. Menjalani KKN (Kuliah Kerja Nyata) di Desa Maradekaya, Kec. Bajeng, Kab.Gowa. Serta Penulis aktif pada organisasi Himpunan Mahasiswa Jurusan Biologi. Terakhir penulis membuat skripsi dengan judul “Isolasi dan Skreening Bakteri Endofit Penghasil Fitase dari Tanaman Jagung (*Zea mays*)”. Semoga segala ilmu yang diperoleh selama masa perkuliahan bermanfaat. Amin